Über den Abbau

von

Chlorophyll und Blutfarbstoff

von

Max Fischer

QK
882
F 59

57/102
752

Über den Abbau

von

Chlorophyll und Blutfarbstoff

Von der

Eidgenössischen Technischen Hochschule
in Zürich

zur Erlangung der Würde eines

Doktors der Naturwissenschaften

genehmigte

Promotionsarbeit

vorgelegt von

Max Fischer, dipl. Fachlehrer,
aus Meisterschwanden (Kt. Aargau)

MBL/WHOI
0 0301 0014459 8

Referent: Herr Prof. Dr. H. Staudinger.
Korreferent: Herr Prof. Dr. F. P. Treadwell.

105

Leipzig 1914
Spamersche Buchdruckerei.

Meinen lieben Eltern in Dankbarkeit gewidmet

Diese Arbeit habe ich im Frühjahr 1912 als Assistent im Privatlaboratorium des Herrn Prof. Dr. R. Willstätter an der Eidg. technischen Hochschule in Zürich begonnen und vom Herbst vorigen Jahres an im Kaiser-Wilhelm-Institut für Chemie in Berlin-Dahlem unter der Leitung meines hochverehrten Lehrers fortgesetzt.

Ich erachte es als eine angenehme Pflicht, an dieser Stelle

Herrn Prof. Dr. R. Willstätter

für das rege Interesse und die vielseitigen Anregungen bestens zu danken.

Inhaltsübersicht.

Seite

I. Betrachtungen über die Konstitution des Hämins 9
II. Die Stammsubstanzen der Phylline und Porphyrine aus Chlorophyll 21
Theoretische Einleitung 21
Ätiophyllin 23
Ätioporphyrin 25
III. Zwischenprodukte der Hämatoporphyrinbildung 29
Theoretische Einleitung 29
Einwirkung wässeriger Bromwasserstoffsäure 34
Einwirkung von Eisessig-Bromwasserstoff 36
Einwirkung von flüssigem Bromwasserstoff 39
Einwirkung von flüssigem Chlorwasserstoff 42
IV. Die Porphyrine mit mehr als vier Sauerstoffatomen (Gruppe des Hämatoporphyrins) 45
Hämatoporphyrin 45
Darstellung in amorphem Zustand 45
Darstellung in krystallisiertem Zustand 48
Analyse 48
Beschreibung 51
Spektrum 52
Esterifizierung 53
Tetramethylverbindung 54
Dimethyläther 58
Monoacetylverbindung 59
Häminoporphyrin 61
Hämidoporphyrin 63
V. Ätioporphyrin aus dem Blutfarbstoff 64
Theoretische Einleitung 64
Ätioporphyrin 65

18146

I. Betrachtungen über die Konstitution des Hämins.

Diese Untersuchungen sollen dazu beitragen, das Gemeinsame und das Unterscheidende in der Struktur von Chlorophyll und Hämin klarzulegen.

Wenn die beiden Farbstoffe stark abgebaut werden, so tritt zwischen ihren Derivaten eine gewisse Verwandtschaft auf, die freilich weniger nah ist, als man immer angenommen hat und in ihrer Bedeutung überschätzt worden ist. Die Porphyrine aus Chlorophyll und Hämin sind einander ähnlich, nämlich Hämatoporphyrin, dem die Formel

$$C_{32}H_{34}N_4(OH)_2(COOH)_2$$

zugeschrieben wird, und Mesoporphyrin, nach Zaleski von der Formel

$$C_{32}H_{36}N_4(COOH)_2\,,$$

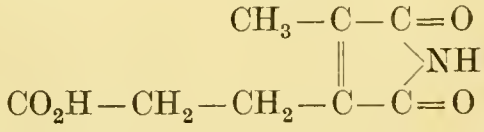
erinnern optisch und im Verhalten an Phyllo- und Pyrroporphyrin von der Formel

$$C_{31}H_{35}N_4COOH$$

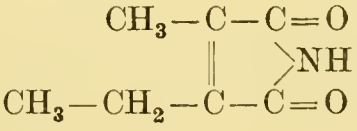
und noch mehr an Rhodo-, Erythro- und Rubiporphyrin von der Formel

$$C_{31}H_{34}N_4(COOH)_2.$$

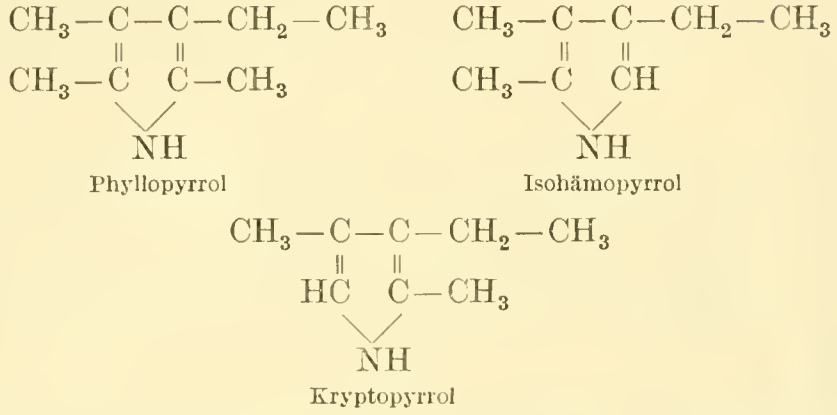
Identische Produkte sind bei dem Abbau beider Pigmente noch nicht erhalten worden, außer bei durchgreifender Spaltung des Farbstoffs, bei der Oxydation zur Hämatinsäure:



und zum Methyläthylmaleinimid:



und bei der Reduktion zu den Hämopyrrolen, einem Gemisch von Pyrrolhomologen, worin hauptsächlich enthalten sind:



Phyllopyrrol — Isohämopyrrol

Kryptopyrrol

Den von Willstätter und seinen Schülern ausgeführten Abbau der beiden Chlorophyllkomponenten durch Alkalien bei hoher Temperatur, der eine Reihe von Carbonsäuren mit komplex gebundenem Magnesium, die Phylline, ergab, habe ich zu den carboxylfreien Verbindungen, den Stammsubstanzen dieser Gruppe, fortgeführt (Kapitel II), nämlich zum

Ätiophyllin, $C_{31}H_{34}N_4Mg$

und dem durch Abspaltung von Magnesium durch Einwirkung von Säure daraus entstehenden

Ätioporphyrin, $C_{31}H_{36}N_4$.

Diese sauerstoffreien Verbindungen sind gut krystallisierende Substanzen, die sich in ihren Eigenschaften dem Gruppenbilde einfügen, das mit den zahlreichen von Willstätter und seinen Mitarbeitern zuvor untersuchten Phyllinen und Porphyrinen gezeichnet worden ist.

Zum Ätioporphyrin habe ich nun auch den Abbau des Hämins geführt (Kapitel V). Während Hämin und Hämatoporphyrin beim Erhitzen mit methylalkoholischer Kalilauge in amorphe hochmolekulare Produkte umgewandelt werden, lassen sie sich bei Zusatz von viel Pyridin zur alkalischen Flüssigkeit in einfachere Porphyrine umwandeln[1]). Aus Hämatoporphyrin entsteht ein schön krystallisierendes Porphyrin mit vier Sauerstoffatomen, Hämoporphyrin, aus Hämin entsteht unter denselben Bedingungen die komplexe Eisenverbindung des Mesoporphyrins. Die beiden Porphyrine stehen einander in der Zu-

[1]) Diese Untersuchungen von R. Willstätter und L. Forsén. Siehe Untersuchungen über den Blutfarbstoff von R. Willstätter und M. Fischer, Zeitschrift f. physiol. Chemie i. Druck.

sammensetzung sehr nahe, sie sind entweder isomer oder Hämoporphyrin enthält zwei Atome Wasserstoff weniger als Mesoporphyrin.

Die Abspaltung der Carboxyle gelingt beim Hämoporphyrin wie beim Rhodoporphyrin nach der Natronkalkmethode, nämlich durch kurzes Erhitzen sehr kleiner Substanzmengen mit dem Alkali. Da die Magnesiumverbindungen leichter Kohlensäure abspalten, führte ich in das Hämoporphyrin zuerst Magnesium ein und spaltete es nach der Decarboxylierung aus dem gebildeten Ätiophyllin wieder ab. Das Reaktionsprodukt ist identisch mit dem Ätioporphyrin aus Chlorophyll nach Zusammensetzung und Eigenschaften wie dem Spektrum und seiner basischen Natur, die mittels der Verteilung zwischen Äther und Salzsäure quantitativ geprüft wurde.

Aus der Zusammensetzung $C_{31}H_{36}N_4$ des Ätioporphyrins ergibt sich, daß seine Dicarbonsäure Hämoporphyrin der Formel $C_{33}H_{36}O_4N_4$ entspricht, daß sie also mit den zweibasischen Porphyrinen aus Chlorophyll (Rhodo-, Erythroporphyrin) isomer ist. Die Analyse des Hämoporphyrins stimmt damit gut überein, während sie mit einer C_{34}-Formel schwer in Einklang gebracht werden könnte. Da die Bildung von Hämoporphyrin aus Hämatoporphyrin ohne Verlust von Kohlenstoff stattfindet, so geht daraus weiter hervor, daß Hämin, Hämato- und Mesoporphyrin nicht mit den üblichen Formeln $C_{34}H_{32}O_4N_4FeCl$, $C_{34}H_{38}O_6N_4$ und $C_{34}H_{38}O_4N_4$ auszudrücken sind, sondern gleichfalls durch Formeln mit 33 Kohlenstoffatomen, nämlich:

Hämin, $C_{33}H_{32}O_4N_4FeCl$.

Unabhängig von der Bildung des Ätioporphyrins habe ich es auch bei der Analyse einer Anzahl von Derivaten des Hämins wahrscheinlich gefunden, daß die Formel des Hämins und Hämatoporphyrins in diesem Sinne abzuändern sind.

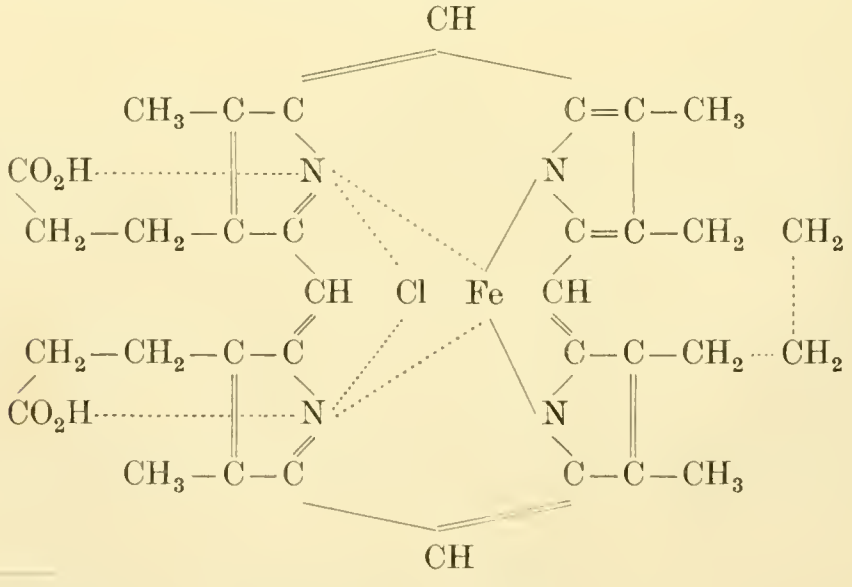
Das bedeutende analytische Material der Literatur fügt sich zum großen Teil dieser Abänderung gut, wie in dem experimentellen Abschnitte IV gezeigt wird; auch für Hämin trifft dies zu. Aus der gründlichen analytischen Untersuchung von W. Küster über Hämin sei z. B. der Durchschnittswert von 16 Analysen des Hämatins neben den theoretischen Werten für die Formeln mit C_{33} und C_{34} angeführt:

Berechnet für	$C_{34}H_{33}O_5N_4Fe$	$C_{33}H_{33}O_5N_4Fe$	gefunden
C	64,43	63,74	63,98
H	5,25	5,35	5,34

Die ältere Häminformel $C_{32}H_{31}O_3N_4FeCl$ ist auf Grund der sorgfältigen Analysen des Mesoporphyrins von J. Zaleski[1]) in die nun allgemein angenommene mit C_{34} abgeändert worden; dabei sind aber, worauf Willstätter und Pfannenstiel[2]) aufmerksam gemacht haben, Formeln mit C_{33} nicht in Betracht gezogen worden. Zwischen so nahestehenden Formeln ergibt die Analyse nicht leicht eine sichere Entscheidung, um so weniger als bei manchen Derivaten des Hämins die Bestimmungen erheblich differieren. Die Entscheidung durch die Überführung in die sauerstoffreie Verbindung, deren Formulierung sich auf die Ableitung aus den Chlorophyllderivaten, also auf ein großes analytisches Material stützt, ist daher von größerer Beweiskraft.

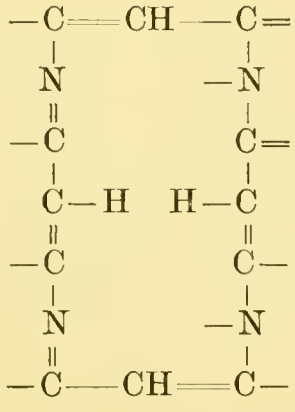
Um für die Struktur des Ätioporphyrins einen Ausdruck zu finden, sind die Ergebnisse der Oxydation und Reduktion von Hämin und Chlorophyllderivaten zu berücksichtigen. Danach setzt sich das Molekül der Stammsubstanz aus vier Pyrrolkernen zusammen. Die Zahl seiner Wasserstoffatome ist auffallend gering, die Pyrrole müssen daher so verbunden und substituiert sein, daß dabei im Vergleich mit einfachen Bindungen acht Atome Wasserstoff erspart werden, sei es durch Doppelbindung oder weitere Ringschlüsse. Einige Vorstellungen hinsichtlich der Art, in der man die Pyrrolkerne verknüpft denken kann, finden sich in der Literatur über Hämin.

W. Küsters[3]) wichtige Arbeiten haben das Gebiet des Blutfarbstoffs mit folgender Konstitutionsformel des Hämins:



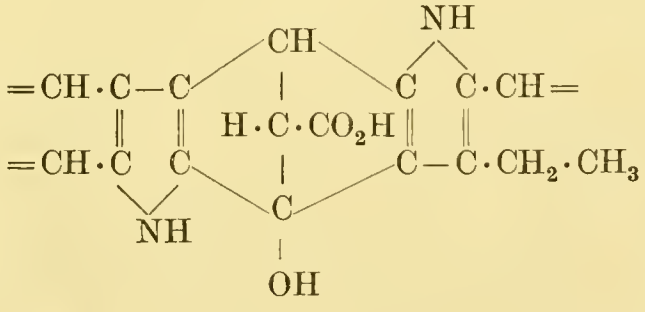
[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **37**, 54 [1902].
[2]) Annalen d. Chemie **358**, 205, 213 [1907] und **371**, 45 [1909].
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **82**, 463 [1912].

beleuchtet, welche besonders dem Verlauf der Oxydation und Reduktion Rechnung trägt. Diese Annahme fordert indessen den Einwand heraus, daß von den beiden mit dem Eisen verbundenen Iminogruppen nur die eine als das saure Imin eines Pyrrols dargestellt wird, die andere aber als basische Iminogruppe eines Dihydropyrrols. Das Unwahrscheinliche dieser Formel liegt namentlich in der Annahme eines aus 4 Stickstoffatomen und 12 Kohlenstoffatomen bestehenden 16-gliedrigen Ringgebildes:



Die ersten Umwandlungen des komplizierten Pigmentes sind so schwer zu enträtseln und sogar die reagierenden Atomgruppen[1]) so schwer zu bestimmen, daß die Ansichten verschiedener Forscher weit auseinander gehen. Von O. Piloty[2]) wird das Hämin auf zwei miteinander verbundene kondensierte Systeme zurückgeführt, die aus Pyrrolen mit Kohlenstoff-6- und 5-Ringen bestehen:

I

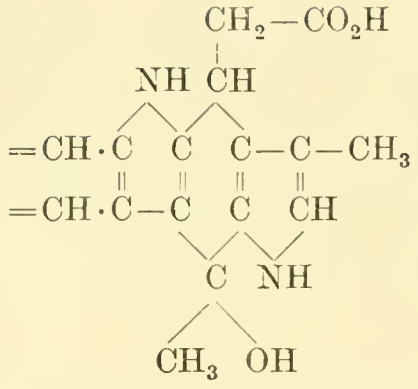


und

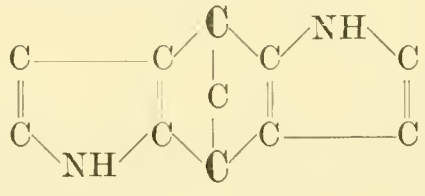
[1]) Siehe dazu R. Willstätter und M. Utzinger, Annalen d. Chemie **382**, 129, 141 [1911] und dagegen O. Piloty und E. Dormann, Annalen d. Chemie **388**, 329 [1912].

[2]) O. Piloty und E. Dormann, Annalen d. Chemie **388**, 313 [1912].

II



Eine solche Auffassung ist nur unter der Voraussetzung möglich, daß die Cyclopentan- und Cyclohexanringe und die bizyklischen Systeme bei der Reduktion leicht zerfallen. Das ist wenig wahrscheinlich[1]). Noch bedeutsamer ist der Widerspruch zwischen den Ergebnissen der Oxydation und dem wesentlichen Inhalt dieser Konstitutionsannahmen. Aus Hämin und seinen Derivaten gemäß den Formeln von Piloty könnte Hämatinsäure nicht hervorgehen. Die tertiären Kohlenstoffatome der beiden Systeme (I und II), z. B.



machen die Bildung des Propionsäurerestes der Hämatinsäure unmöglich; derselbe Einwand ist gegen die Formel der Bilirubinsäure (Bilinsäure) von Piloty und S. J. Thannhauser[2]) zu erheben. Die eigentümlichen Ringgebilde, welche die angeführten Formeln darstellen, ergaben sich aus der Schwierigkeit, die Vereinigung der Pyrrole zu einem so wasserstoffarmen Molekül auszudrücken. Es ist eben nicht wohl möglich, wenn man die zur Erklärung der Oxydationsprodukte erforderlichen Äthylgruppen vorsieht, das Ätioporphyrin ohne Annahme mindestens eines Kohlenstoffringes zu formulieren.

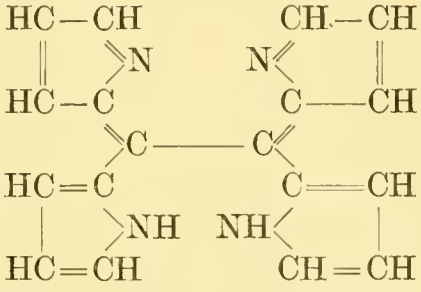
Eine Verknüpfung von vier Pyrrolen durch ein einziges Kohlenstoffatom führt nicht zu einem Farbstoff; eine Verbindung von Pyrrol zu Pyrrol mit Methylen- oder Methingruppen gemäß der Formel von Küster ist nicht wahrscheinlich, weil sie einen ungewöhnlich komplizierten Ring ergibt.

---

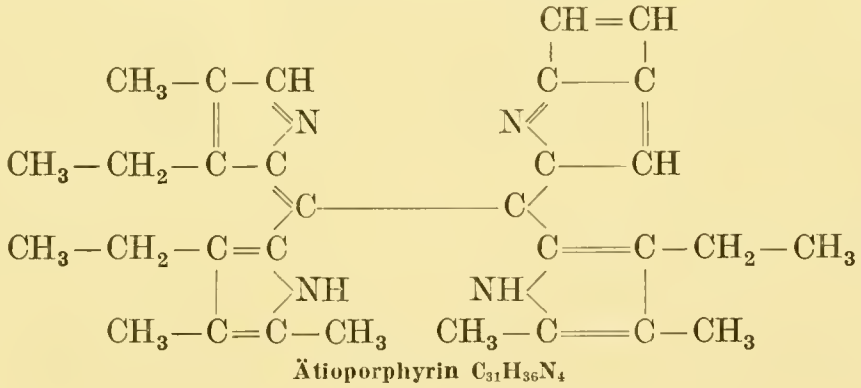
[1]) Vergleiche H. Fischer und E. Bartholomäus, Zeitschr. f. physiol. Chemie **83**, 50 [1912].

[2]) Annalen d. Chemie **390**, 191 [1912].

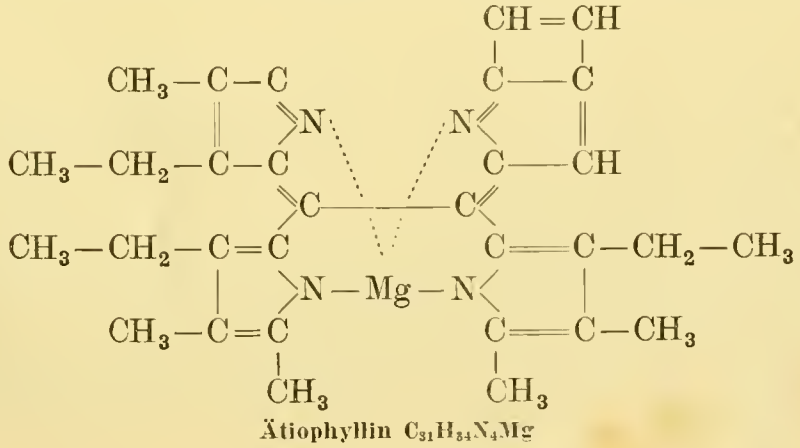
Als eine einfache Verknüpfung von vier Pyrrolkernen, von nur zwei salzbildenden und zwei komplexbildenden zum Kern eines Farbstoffs ist mir folgende Formel wahrscheinlich:



Läßt man in diese Grundsubstanz entsprechend den bekannten Oxydationsprodukten drei Methyl- und drei Äthylgruppen und mit Rücksicht auf die Reduktionsprodukte mindestens noch ein Methyl eintreten, so bleibt schließlich für die letzten drei Kohlenstoffatome des Ätioporphyrins nur so viel Wasserstoff übrig, daß entweder zwei Doppelbindungen oder zwei Kohlenstoffringe oder je eines von beiden angenommen werden muß. Wenn man nun, gemäß dem Verlauf der Reduktion, von einem Ring mit großer Beständigkeit, einem Cyclopentan- oder -hexanring absieht, so resultieren mit einiger Wahrscheinlichkeit folgende Formeln für Ätioporphyrin und Ätiophyllin:



Ätioporphyrin $C_{31}H_{36}N_4$



Ätiophyllin $C_{31}H_{34}N_4Mg$

Diese Formel sucht die Wasserstoffzahl des Ätioporphyrins durch die Verbindung eines Vinylrestes mit einem Pyrrol zum Cyclobutanring zu erklären. Mehrere Einzelheiten sind willkürlich, so könnte der Cyclobutanring in β-β-Stellung an das Pyrrol angegliedert sein.

Die Carboxyle des Phyllo- und Pyrroporphyrins und anderer saurer Porphyrine substituieren Äthylgruppen; die Formel ist unsymmetrisch genug, um den Isomerien zu genügen.

Versucht man nun die Beziehung zwischen dem Ätioporphyrin und dem Hämin klarzulegen, so treten die Fragen entgegen, welche die ersten Umwandlungen des Hämins noch stellen.

Willstätter und Fritzsche[1]) haben vor vier Jahren darauf aufmerksam gemacht, daß im Hämin gemäß den Versuchen von M. Nencki und J. Zaleski[2]) über die Esterbildung zwei freie Carboxyle angenommen werden müssen. W. Küster[3]) hat diese Ansicht einwandfrei bewiesen, während O. Piloty an der Annahme festhält, Hämin enthalte die beiden Carboxyle in der Form von Lactamgruppen und die zwei übrigen Sauerstoffatome als Hydroxyle. Indessen stehen mit dieser Lactamformel der Dialkylester von Nencki und Zaleski, deren Werte Formeln wie

$$C_{32}H_{30}(COOCH_3)_2N_4FeCl$$

entsprechen, und dann die Oxydation des Dimethylhämins zu Hämatinsäureester nach Küster im Widerspruch.

Mit dem Austritt des Eisens aus dem Hämin erfolgt nach Piloty zugleich die Lösung der angenommenen Lactamgruppen, Hämatoporphyrin wäre demnach die eisenfreie, dem Hämin genau entsprechende Verbindung. Dem entgegen betrachtet W. Küster zwei Vinylgruppen im Hämin als Angriffsstellen der Reagenzien, z. B. des Bromwasserstoff-Eisessigs bei der Eliminierung des Eisens, und H. Fischer[4]) hält es für wahrscheinlich, daß es Doppelbindungen zwischen Methingruppen und Pyrrolkernen sind, die Halogenwasserstoff, also mittelbar Wasser aufnehmen.

Die Erklärung von H. Fischer ließe erwarten, daß die Farbe der Verbindungen bei den Additionen in Mitleidenschaft gezogen, nämlich abgeschwächt würde:

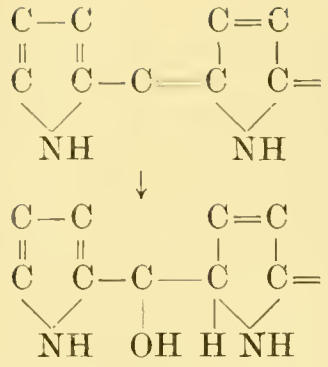
---

[1]) Annalen d. Chemie **371**, 49 [1909].

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **30**, 384 [1900].

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **66**, 165 [1910]; Chem. Ber. **45**, 1935 u. 2503 [1912]; Zeitschr. f. physiol. Chemie **86**, 185 [1913].

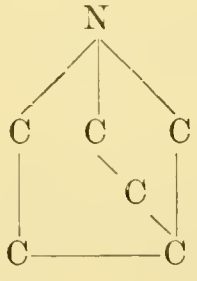
[4]) H. Fischer, E. Bartholomäus und H. Röse, Zeitschr. f. physiol. Chemie **84**, 262 [1913].



was nicht zutrifft. Nach der Betrachtung von Küster wären es unwichtige, die komplexe Bindung nicht beeinträchtigende Gruppen, an welche Additionen stattfinden würden.

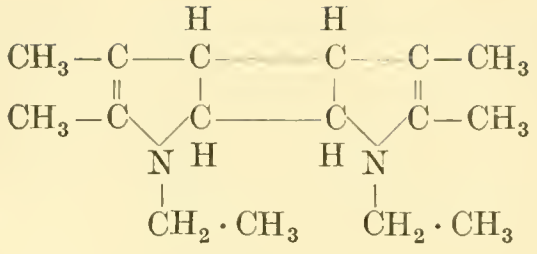
Ich habe über die Beziehung zwischen Hämin und seinen Porphyrinen, namentlich über den Verlauf der Hämatoporphyrinbildung, Versuche angestellt (Kapitel III und IV), deren Ergebnisse dort erörtert werden. Dabei hat es sich gezeigt, daß bei der Eliminierung des Eisens an Hämin zunächst zwei Moleküle Halogenwasserstoff addiert werden und dadurch die Bindung des Eisens eine Lockerung erfährt. Erst dann ist es möglich, das Eisen abzuspalten, während aus Hämin selbst das Metall noch mit keinem Mittel abgespalten wurde.

Zur Erklärung der Reaktion beim Austritt des Eisens scheint mir die Annahme begründet, daß die Gruppen, die sich durch ihr Additionsbestreben auszeichnen, mit Stickstoffatomen in Verbindung stehen, etwa nach folgendem Schema:

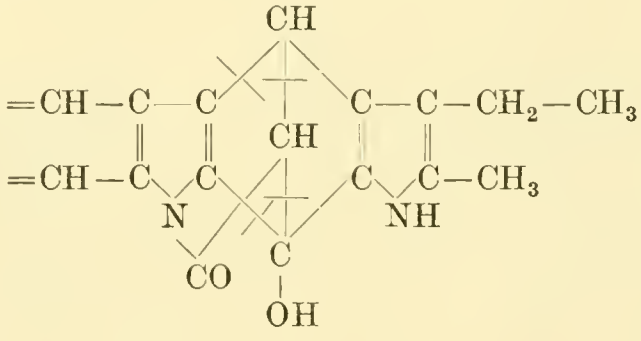


Diese Formel für einen Teil des Häminmoleküls stimmt sehr gut zu einer merkwürdigen, aber noch unsicheren Beobachtung von O. Piloty und J. Stock[1]), die in der Form des Pikrates ein polymerisiertes, wahrscheinlich am Stickstoff äthyliertes Pyrrol, nämlich vielleicht ein bis -α-β-Dimethyl-N-Äthylpyrrol von der Formel:

[1]) Annalen d. Chemie **392**, 215 [1912]; siehe aber dagegen O. Piloty und K. Wilke, Chem. Ber. **46**, 1597 [1913].



unter den Hämopyrrolen aufgefunden haben. Daß die Äthylgruppe aus dem als Lactam vorhandenen Carboxyl und einem Kohlenstoffatom des Kohlenstoffünfringes hervorgeht, wie Piloty und Stock annehmen



ist sehr unwahrscheinlich.

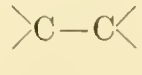
Wenn schon das Ätioporphyrin von der Formel

$$C_{31}H_{36}N_4$$

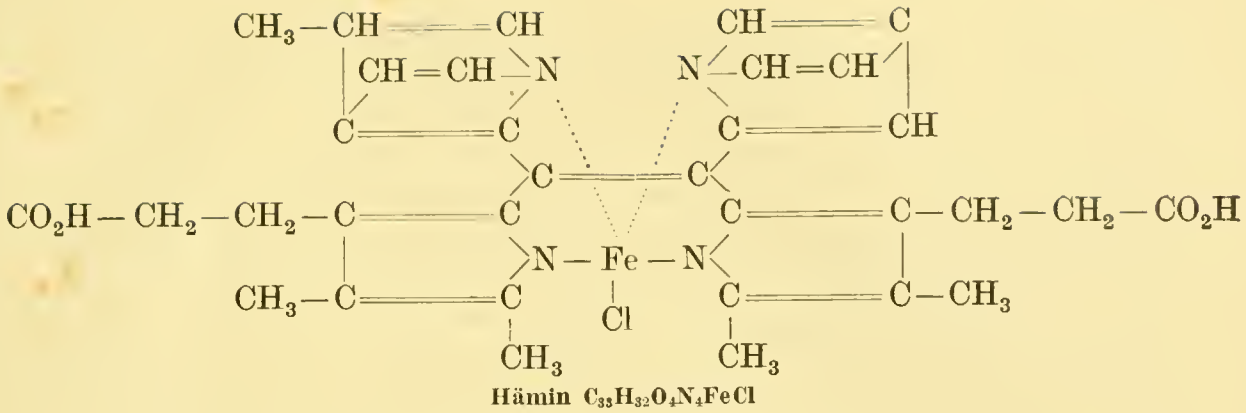
auffallend wasserarm erscheint, so leitet sich Hämin $C_{33}H_{32}O_4N_4FeCl$ von einer noch um zwei Wasserstoffatome ärmeren Grundsubstanz

$$C_{31}H_{34}N_4$$

ab, welche die Annahme von Doppelbindungen und Kohlenstoffringen erzwingt. Auf der Grundlage der angenommenen Verknüpfung von vier Pyrrolen durch die Gruppe

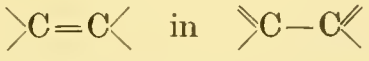


und der Bindung von zwei Vinylen an Stickstoffatome wird im folgenden versucht, eine dem Verhalten bei der Oxydation, der Reduktion und der Porphyrinbildung genügende Konstitutionsformel des Hämins zu entwickeln, die in mehreren Einzelheiten unsicher und zu verbessern ist, aber für weitere Untersuchungen nützlich sein kann:



Hämin $C_{33}H_{32}O_4N_4FeCl$

Bei der Bildung des Hämatoporphyrins werden sich die Brücken von den zwei Pyrrolstickstoffatomen loslösen, worauf sich die mittlere Gruppe



umwandeln kann.

Bei der Umwandlung des Hämatoporphyrins in Hämoporphyrin soll nach dieser Annahme die Kondensation eines Vinylrestes mit einem Kohlenstoffatom des Pyrrolkernes erfolgen, welches das Strukturbild des Ätioporphyrins zum Ausdruck bringt. Dem möglicherweise um zwei Wasserstoffatome reicheren Mesoporphyrin käme dann die Formel des Hämoporphyrins mit Sättigung der kondensierten Vinylgruppe zu.

Die Formel veranschaulicht, daß das Molekül des Hämins sich beim Abbau in unsymmetrischer Weise ändert, worauf mehrere Reaktionen hindeuten. Während bei der Oxydation kein Methyläthylmaleinimid auftritt, liefert[1]) Mesoporphyrin dieses Imid, indessen nicht mehr als ein Molekül.

Da auf dem Wege vom Hämin zu den Porphyrinen Änderungen in der Konstitution vorkommen, so ist der Vorschlag von Küster[2]) nicht einwandfrei, Hämin und seine Derivate mit einer einheitlichen Bezeichnung auf eine scheinbar gemeinsame Grundsubstanz Hämaterin zurückzuführen.

Diese Betrachtungen über die Konstitution des Hämins und Hämatoporphyrins setzen die einfache Molekulargröße dieser Verbindungen voraus, welche die Formeln mit 33 Atomen Kohlenstoff

---

[1]) H. Fischer und F. Meyer-Betz, Zeitschr. f. physiol. Chemie **82**, 96 [1912] und W. Küster und P. Deihle, Chem. Ber. **45**, 1935, 1945 [1912] und Zeitschr. f. physiol. Chemie **82**, 463 [1912].

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **86**, 55 u. 190 [1913].

ausdrücken. Diese Annahme läßt die Ergebnisse der Arbeiten von Piloty und Dormann und Fink unberücksichtigt, wonach die Molekulargewichte von Hämin und Hämatoporphyrin zu verdoppeln wären. Die betreffenden Angaben werde ich im Abschnitt über Hämatoporphyrin erörtern und meine mit der krystallisierten Tetramethylverbindung des Hämatoporphyrins ausgeführten Bestimmungen mitteilen, welche die einfache Molekulargröße bestätigten.

Obwohl nun Chlorophyll und Hämin auf das gleiche Ätioporphyrin zurückgeführt worden sind, das man als eine Stammsubstanz bezeichnen kann, so darf aus den Untersuchungen über den Abbau keineswegs der Schluß einer nahen Strukturverwandtschaft zwischen Chlorophyll und Hämin gezogen werden. Hier Magnesium, dort Eisen, hier Esterbildung mit Phytol, dort Paarung mit Globin; zu solchen, den ungleichartigen Funktionen entsprechenden Unterschieden kommen noch Verschiedenheiten in dem eigentlichen Farbstoffkern, die erst bei tiefgreifendem Abbau verschwunden sind.

Auf dem Wege vom Hämin zum Ätioporphyrin gibt es zwei Verwandlungen, die den Bau des Moleküls wesentlich ändern, nämlich den Übergang von Hämin zu Hämatoporphyrin und von diesem zum Hämoporphyrin, das mit den Porphyrinen des Chlorophylls isomer ist.

Auch zwischen Chlorophyll und dem Ätiophyllin, genauer zwischen Chlorophyll und den zweibasischen Phyllinen, liegen zwei das Molekül wesentlich umgestaltende Einwirkungen, die sich mit den Reaktionen des Hämins nicht in Parallele bringen lassen.

Der eine Schritt ist die Umlactamisierung[1]) der Chlorophyllkomponenten, durch die ein Ringsystem aufgespalten, ein neues synthetisiert wird. Die zweite, gleichfalls erhebliche Umformung[2]) des Moleküls, die weniger augenfällig stattfindet, geschieht durch die Einwirkung von Alkali bei hoher Temperatur und führt von den Chlorophyllinen zu den einfacher konstituierten Dicarbonsäuren, z. B. Rhodophyllin, oder vom Phytochlorin und Phytorhodin zu den entsprechenden Porphyrinen.

Künftigen Untersuchungen fällt die Aufgabe zu, die Konstitution des Ätioporphyrins in wichtigen Einzelheiten zu erforschen, um die vorliegende Strukturannahme zu prüfen und zu verbessern und die Aufgabe, die konstitutionellen Änderungen aufzuklären, die vom Hämin und andererseits vom Chlorophyll zu den Porphyrinen führen.

---

[1]) R. Willstätter und M. Utzinger, Annalen d. Chemie **382**, 129 [1911].

[2]) R. Willstätter, M. Fischer und L. Forsén, XXII. Abhandlung über Chlorophyll, Annalen d. Chemie **400**, 147 [1913].

II. Die Stammsubstanzen der Phylline und Porphyrine aus Chlorophyll.

Theoretische Einleitung.

Die Decarboxylierung der Chlorophyllderivate beim Erhitzen mit methylalkoholischer Kalilauge im geschlossenen Gefäß führt nur bis zu den Monocarbonsäuren. Dann erfolgt bei gegen 250° Zersetzung unter Bildung von amorphen braunen Produkten und von Hämopyrrolen, und es gelingt nicht, das carboxylfreie Phyllin oder Porphyrin so zu bilden. Wahrscheinlich dauert bei diesem Versuch das Erhitzen zu lange. Beim Erhitzen mit Verdünnungsmitteln, z. B. von Phylloporphyrin mit Chinolin oder Acridin trat keine Änderung ein. Decarboxylierende Bakterien (eine Reinkultur von Bakterien, die Histidin glatt decarboxylierten, verdankte ich der Fabrik von F. Hoffmann-La Roche in Grenzach) griffen Rhodophyllin nicht an. Die Abspaltung des letzten Carboxyls hingegen gelingt mit der klassischen Natronkalkmethode, und zwar am besten bei kurzem Erhitzen kleiner Mengen von Phyllinen und Porphyrinen mit Natronkalk im Reagierrohr; man muß dabei die Temperatur treffen, bei der Kohlensäure schon abgespalten, aber die empfindliche Substanz nicht alsbald zersetzt wird. Die Schwierigkeit liegt darin, daß das Reaktionsprodukt unterhalb seiner Bildungstemperatur schon zersetzlich ist. Natürlich kann man keine hohe Ausbeute an den sauerstoffreien Verbindungen erwarten; ein Teil angewandte Substanz bleibt unverändert, während ein anderer Teil schon zerstört wird. Immerhin erhielt ich eine Ausbeute von 14% der Theorie an Ätiophyllin aus Rhodophyllin und gegen 10% an der magnesiumfreien Verbindung bei ihrer Bildung aus Phylloporphyrin.

Bei der Darstellung des Phyllins ist mit besonderer Vorsicht darauf zu achten, daß kein Fremdmetall, z. B. kein Eisen an die Stelle von Magnesium tritt; das Porphyrin läßt sich wohl vollständig von fremden Metallen befreien, aber nicht das Phyllin.

Die carboxylfreien Verbindungen sind überhaupt sehr schwierig zu reinigen. Infolge ihrer Indifferenz gegen Alkalien kann man wohl die sauren Beimischungen entfernen. Auch läßt sich das Ätiophyllin mit verdünnter Salzsäure, gegen die es große Beständigkeit zeigt, waschen und das Porphyrin damit nach der allgemeinen Methode für die Trennung der Chlorophyllderivate fraktionieren. Aber diese Verfahren waren nicht ausreichend. Dem Ätiophyllin blieb hartnäckig eine magnesiumhaltige unbeständige Substanz beigemischt, die allein durch Ausfällen mit Petroläther aus der ätherischen Lösung entfernt werden

konnte. Das Ätioporphyrin wurde am reinsten aus seinem krystallisierten Styphnat isoliert.

Die Phylline spalten Kohlensäure merklich glatter ab als die Porphyrine; es entsteht weniger Nebenprodukt und fast kein Hämopyrrol. Es ist daher leichter, Ätiophyllin darzustellen als Ätioporphyrin und das beste Verfahren für das carboxylfreie Porphyrin führt über das Phyllin, welches bei Einwirkung von ziemlich starker Säure auf seine ätherische Lösung von Magnesium befreit wird. Umgekehrt gelingt es nach der Methode von Willstätter und Forsén, das Magnesium wieder in Ätioporphyrin einzuführen, nämlich durch Einwirkung von Grignardschem Reagens.

Bei dem Abbau der verschiedenen Chlorophyllderivate erhielt ich das nämliche Ätioporphyrin, nämlich aus Rhodophyllin und Pyrroporphyrin dasselbe wie aus Phylloporphyrin. Die Annahme, daß Phyllo- und Pyrroporphyrin sich lediglich durch den Ort des Carboxyls unterscheiden, ist dadurch bewiesen worden.

Das Ätiophyllin krystallisiert gut, es ist prächtig violettrot in Lösung und fluoresciert intensiv. Einige Eigenschaften sind unerwartet. Man hätte wohl vermutet, daß durch die Abspaltung des Carboxyls der basische Charakter verstärkt würde. Indessen geht Ätioporphyrin aus Äther erst in 3proz. Salzsäure reichlich über, es erfordert also viel stärkere Säure als Phylloporphyrin (Salzsäurezahl $^3/_4$) und Pyrroporphyrin (Salzsäurezahl $1^1/_2$). Die Carboxyle bewirken also nicht eine Verminderung der basischen Eigenschaften der Porphyrine, ihr Einfluß scheint vielmehr abhängig zu sein von ihrer Stellung. Hiernach ist es nicht mehr unverständlich, daß die mehrbasischen Porphyrine aus Hämin, nämlich Hämatoporphyrin und Mesoporphyrin, weit stärker basisch sind als die zweicarboxyligen Porphyrine aus Chlorophyll.

Das Ätiophyllin ist in ätherischer (nicht aber in petrolätherischer) Lösung ziemlich widerstandsfähig gegen Mineralsäure, während Phyllophyllin, Cyanophyllin und andere Verbindungen der Reihe sehr leicht das Magnesium verlieren, schon bei kurzem Verweilen in ätherischer Lösung. Es zeigt sich, daß eine saure Gruppe im eigenen Molekül des Phyllins auf den Magnesiumkomplex viel leichter einwirkt als Mineralsäure.

Die carboxylfreien Verbindungen sind von Wert für den weiteren Abbau, sie eröffnen dafür neue Möglichkeiten. Auch schon ihre Analyse ist von Bedeutung, da sie die von Willstätter und seinen Mitarbeitern vertretenen Ansichten über die Bindung des Magnesiums in den Phyllinen und die Zusammensetzung des aus vier Pyrrolkernen bestehenden Porphyrinmoleküls bestätigt.

Ätiophyllin, $C_{31}H_{34}N_4Mg$.

Bildung: Rhodophyllinkalium wird sorgfältig mit der vier- bis fünffachen Menge von reinem (eisenfreiem) Natronkalk verrieben und im Reagierrohr in Portionen aus je 0,05 bis 0,1 g Kaliumsalz über einer kleinen Flamme vorsichtig aber rasch erhitzt, wobei durch ständiges Bewegen das Anhaften der Substanz an der Glaswand verhütet wird. Bei dem gleichmäßigen Erhitzen ist ein plötzlicher Farbwechsel von Hellgrau in Braun zu bemerken; zugleich tritt etwas Hämopyrrolgeruch auf. Bei diesem Punkt ist das Erhitzen sofort zu unterbrechen und durch Abkühlen in einer Schale mit Kupferpulver die Temperatur schnell herabzudrücken.

Das erkaltete Reaktionsprodukt wurde mit etwas Wasser angefeuchtet und unter kurzem Erwärmen und Schütteln mit reinem (fettfreiem) Äther ausgezogen; die aus 10 g Rhodophyllinkalium erhaltenen Lösungen wurden vereinigt und durch aufeinanderfolgende Einwirkung von Alkali und Säure gereinigt. Da das Ätiophyllin keine ausgesprochenen sauren Eigenschaften aufweist, habe ich die ätherische Lösung zunächst mit reiner (zink- und kupferfreier) konzentrierter methylalkoholischer Kalilauge durchgeschüttelt. Die Lauge nahm mit brauner Farbe saure Nebenprodukte und einen Teil des Ätiophyllins auf; ohne vom Äther abzutrennen, verdünnte ich die alkalische Schicht mit Wasser, wobei amorphe Flocken ausfielen und das Phyllin wieder vollständig in Äther überging. Die Prüfung auf allfällig vorhandenes Ätioporphyrin geschah durch Schütteln mit 4proz. Salzsäure; das Phyllin ist beständig gegen sie, beigemischtes Porphyrin geht mit violetter Farbe in die Säure über. Nach dem ausgearbeiteten Verfahren entsteht indessen so gut wie kein Porphyrin. Dennoch empfiehlt es sich, die ätherische Lösung mit einigen hundert Kubikzentimetern 5proz. Salzsäure etwa 10mal tüchtig auszuschütteln, wodurch wieder braune Flocken ausgefällt werden. Zuletzt wird mit verdünntem Ammoniak alle Säure entfernt. Die bis auf 2 ccm eingedampfte Lösung erstarrte in einem Versuch zu einem krystallinischen Brei; das Präparat ließ sich mit Äther umkrystallisieren, worin es sich spielend löste. Die Lösung wurde ohne Trocknung filtriert und auf 1 ccm eingeengt. Dann schied sich das Ätiophyllin in schönen blauvioletten Krystalldrusen aus, die unter dem Mikroskop tafelige und prismatische Formen zeigten und je nach der Dicke rosarot bis violett in der Durchsicht waren. Die Ausbeute an Rohprodukt betrug 0,5 bis 0,6 g, an umkrystallisierter Substanz 0,4 g.

In anderen Versuchen krystallisierte das Ätiophyllin nicht aus,

wahrscheinlich weil es weniger rein war. Auch wurde bei längerem Stehen seine anfangs blaustichig rote Lösung in Äther oder in Benzol mißfarbig. Nach dem Konzentrieren ließ sich mit Petroläther eine Beimischung ausfällen, die zwar gleich den Phyllinen fluorescierte, aber von unschöner brauner Farbe war. Sie gab mit Säure unter reichlicher Bildung amorpher Flocken ein in Äther gelbbraunes Porphyrin. Das Nebenprodukt, selbst unbeständig, scheint die Haltbarkeit des Ätiophyllins zu beeinflussen. Es hat keine sauren Eigenschaften, ist aber sauerstoffhaltig, vielleicht hat es den Sauerstoff erst während der Operationen aufgenommen. Nach seiner Entfernung mit Hilfe von Petroläther ist das Ätiophyllin rein und auch in verdünnter ätherischer Lösung gut haltbar mit sehr schöner fuchsienroter Farbe.

Bildung aus Ätioporphyrin: Die konzentrierte Lösung in trocknem Äther wird durch Magnesiummethyljodid vollständig als hellroter Niederschlag gefällt; beim Schütteln der Suspension mit primärem Phosphat entsteht die stark fluorescierende Phyllinlösung.

Analyse: Das Ätiophyllin ist dafür im Hochvakuum bei 100° getrocknet worden; es erlitt wie die anderen Phylline, die durchwegs gebundenen Äther enthalten, einen erheblichen Gewichtsverlust (gegen 10%). Für die I. und II. Bestimmung diente ein Rohprodukt, für III. ein mit Petroläther gereinigtes, für IV. ein aus Äther umkrystallisiertes Präparat.

I. 0,2267 g gaben 0,6334 g CO_2 und 0,1482 g H_2O,
II. 0,02412 g gaben 0,00178 g Asche (MgO),
III. 0,1415 g gaben 0,3988 g CO_2 und 0,0924 g H_2O,
IV. 0,00871 g gaben 0,00067 g Asche (MgO).

Berechnet für $C_{31}H_{34}N_4Mg$		Gefunden	I	II	III	IV
C	76,44		76,20	—	76,86	—
H	7,04		7,32	—	7,31	—
Mg	4,99		—	4,45	—	4,64

Die mit Petroläther ausgefällten Flocken enthielten nur 74,15% C und 6,91% H (ber. für $C_{31}H_{34}ON_4Mg$: C 74,01, H 6,82); ein von dieser Beimischung nicht befreites Präparat des Ätiophyllins, das frisch dargestellt zufolge der Analyse I rein gewesen, ergab nach eintägigem Stehen in benzolischer Lösung nur noch 75,23 C und 7,02 H, ein anderes Präparat 74,83 C und 7,14 H.

Beschreibung: Ätiophyllin ist in ätherischer Lösung gegen 4- bis 7proz. Salzsäure beim Durchschütteln und mehrstündigem Stehen beständig, also viel widerstandsfähiger als die Carbonsäuren der Phyllinreihe.

Erst an 15proz. Salzsäure wird sofort ein kleiner Teil abgegeben,

während die ätherische Lösung noch in Farbe und Fluorescenz unverändert bleibt. Auch beim Vermischen der ätherischen Lösung mit Eisessig verliert das Ätiophyllin nicht leicht das Magnesium. Erst nach einigem Stehen verschwindet die Fluorescenz.

Ganz anders und sehr auffallend ist das Verhalten einer petrolätherischen Ätiophyllinlösung gegen verdünnte Säure. Schon mit 0,05 proz. Salzsäure schlägt die Farbe sofort in den Bronzeton des Ätioporphyrins um, mit noch verdünnterer Säure allerdings nicht mehr. Gegen 1- bis 3 proz. Salzsäure verhält sich Ätiophyllin in Petroläther nicht anders als fertiges Ätioporphyrin. Ein Teil des Porphyrins geht in Lösung, ein anderer Teil krystallisiert als Chlorhydrat in glitzernden langen Nadeln aus.

Beim Erwärmen mit methylalkoholischer Kalilauge geht die Substanz mit roter Farbe in Lösung; kocht man den Alkohol weg, so fällt sie aus und geht beim Verdünnen unverändert in Äther.

Das Ätiophyllin ist in Äther und Alkohol äußerst leicht und auch in den anderen organischen Lösungsmitteln sehr leicht löslich, mit Ausnahme von Petroläther, worin es ziemlich schwer löslich ist. Die alkoholische Lösung ist blaurot und besitzt starke Fluorescenz wie die Lösung in Äther, verdünnt zeigt sie prächtige violettrote Farbe.

Beim Verdunsten der Lösung in Petroläther krystallisiert das Phyllin in rhombenförmigen Täfelchen aus, ähnlich dem Carotin, aber noch tiefer rot. Diese Rhomben sind oft spindelförmig gerundet und neigen zur Bildung von Zwillingen und Durchwachsungsdrillingen. Beim Trocknen im Hochvakuum ändert sich die Löslichkeit nicht. Im Schmelzpunktsrohr sintert die Substanz über 160°, schmilzt unscharf bei etwa 205° und erweist sich noch bei 250° als unverändert.

Ätioporphyrin, $C_{31}H_{36}N_4$.

Darstellung: Die gereinigte Lösung des Ätiophyllins wurde mit 20 proz. Salzsäure durchgeschüttelt; die Zersetzung erfolgt dann augenblicklich und das Porphyrin geht mit violettroter Farbe in die Säure über. Daraus wurde es durch Neutralisieren mit Ammoniak in frischen Äther übergeführt und von neuem mit 4 proz. Salzsäure extrahiert, wofür mehrmaliges Ausziehen erforderlich war. Der Äther behielt nur schwach bräunliche Farbe. Unter annäherndem Neutralisieren brachte ich das Porphyrin wieder in Äther und dampfte bis auf 10 bis 20 ccm ein; dann begann sich das Porphyrin abzuscheiden; es bildete eine schöne violettglänzende krystallinische Kruste (Ausbeute 0,6 g aus 6 g Rhodophyllinkalium).

. Zur Bildung aus Phyllo- (und Pyrro- oder Rhodo-) Porphyrin wurde die innig verriebene Mischung mit dem Natronkalk ebenso kurz aber höher erhitzt als bei dem Phyllin, bis plötzlich heftige Entwicklung von Dämpfen eintrat. Nach dem Anfeuchten und Ausziehen mit Äther habe ich die vereinigten Lösungen aus zahlreichen kleinen Portionen mit 1 proz. Salzsäure viermal gewaschen. Dabei wird ein in geringer Menge auftretendes, stark basisches krystallisierbares Nebenprodukt entfernt, das mit leuchtend roter Farbe in die Säure geht. Sodann wurde der Äther mit 10 proz. Ammoniak öfters ausgeschüttelt und dadurch das Ammoniumsalz einer Säure in Flocken niedergeschlagen, die schwächer basisch ist als Phyllo- und Pyrroporphyrin. Wird das Ätioporphyrin nun isoliert, so ist es nicht frei von Mineralbestandteilen, deshalb führte ich es mindestens einmal aus dem Äther in 10 proz. Salzsäure über, wobei ein wenig metallhaltiges Produkt im Äther hinterbleibt. Dann ätherte ich lediglich durch Verdünnen wieder aus und ließ die Substanz, die in reinem Zustand schwer löslich ist, aus der mäßig konzentrierten Ätherlösung krystallisieren; sie bildete krystallinische Aggregate. Die Ausbeute betrug 6 bis 10% vom Ausgangsmaterial.

Analyse: Für die I. Bestimmung hat ein aus Ätiophyllin erhaltenes und mittels des schönen styphninsauren Salzes gereinigtes Präparat gedient, für die anderen Bestimmungen aus Phylloporphyrin dargestelltes und aus ätherischer Lösung ausgeschiedenes Ätioporphyrin. Die Präparate waren aschefrei; ihr Gewichtsverlust beim Erhitzen im Hochvakuum war gering.

I. 0,1080 g gaben 0,3187 g CO_2 und 0,0747 g H_2O,
II. 0,00679 g gaben 0,01999 g CO_2 und 0,00465 g H_2O (nach Pregl),
III. 0,00476 g gaben 0,01400 g CO_2 und 0,00348 g H_2O (nach Pregl),
IV. 0,00670 g gaben 0,725 ccm Stickgas bei 22° und 727 mm Druck (nach Pregl).

Berechnet für $C_{31}H_{36}N_4$		Gefunden	I	II	III	IV
C	80,11		80,48	80,29	80,21	—
H	7,86		7,74	7,66	8,18	—
N	12,09		—	—	—	11,96

Beschreibung: Die Salzsäurezahl des Porphyrins ist 3, seine Verteilungszahl[1]) für 3 proz. Salzsäure 40. Das Ätioporphyrin bildet ein Pulver, das ähnliche Farbe zeigt wie Alizarin auf Chrombeize und das bei ungefähr 280° schmilzt. Das Porphyrin ist in Alkohol in der Kälte

[1]) Siehe R. Willstätter, M. Fischer und L. Forsén, XXII. Abhandlung über Chlorophyll, Annalen d. Chemie **400**, 147 [1913].

wenig, viel mehr, aber doch noch ziemlich schwer, beim Kochen löslich. Die Lösung ist braunrot, von etwas mehr roter Nuance als die ätherische und fluoresciert, viel schwächer als die Phylline, stärker als Pyrroporphyrin. In Eisessig ist es in der Wärme beträchtlich, in Aceton leicht löslich. In Ameisensäure löst es sich spielend mit prächtig blaustichig roter Farbe. Beim Kochen mit methylalkoholischer Kalilauge bleibt die Substanz unverändert, mit Dimethylaminobenzaldehyd reagiert die salzsaure Lösung nicht.

Mit Schwermetallsalzen bildet das Ätioporphyrin charakteristische Komplexverbindungen. Die Eisessiglösung wird beim Erwärmen mit Zinkacetat rein rot, mit Kupferacetat rotviolett, beim Überführen in Äther gleichfalls rot. Das Kupferderivat widersteht der Einwirkung von konzentrierter Salzsäure, die Zinkverbindung wird von verdünnter Mineralsäure wie Ätiophyllin gespalten.

Mit Pikrinsäure, Platinchlorwasserstoffsäure und anderen Säuren bildet das Ätioporphyrin schöne Salze. Das Pikrat wird aus Äther in roten Flocken gefällt, bei langsamer Ausscheidung bildet es schöne rote Prismen mit domatischer Begrenzung. Mit ätherischem Goldchlorid entsteht eine rotviolette krystallinische Fällung.

Das Chlorhydrat krystallisiert in langen olivbraunen Nadeln, wenn man die ätherische Porphyrinlösung langsam mit chlorwasserstoffhaltigem Äther versetzt.

Styphninsaures Salz, $C_{31}H_{36}N_4 \cdot C_6H_3O_8N_3$. Die ätherische Lösung des Ätioporphyrins zeigt mit Styphninsäure einen Farbumschlag von Braunrot in Blaurot und gibt einen roten flockigen Niederschlag. Aus sehr verdünnter Lösung krystallisiert das Styphnat in prächtigen, leuchtend roten Prismen, die oft gedrehte Aggregate bilden. Es ist in heißem Alkohol leicht, in kaltem und in Äther schwer löslich und läßt sich aus diesem umkrystallisieren, durch Petroläther wird es vollständig gefällt. Das Salz schmilzt bei 170° nach vorangegangenem Sintern. Das Analysenpräparat war nicht ganz frei von überschüssiger Styphninsäure.

0,1693 g gaben 0,3782 g CO_2 und 0,0785 g H_2O.

Berechnet für $C_{37}H_{39}O_8N_7$		Gefunden
C	62,58	60,92
H	5,54	5,19

Absorptionsspektra.

Ätiophyllin: Das Absorptionsspektrum ist sehr ähnlich dem von Pyrrophyllin, namentlich von umkrystallisiertem. Zu den charakte-

ristischen Absorptionsbändern in der gelben und grünen Region tritt noch ein weniger intensives, eigentümlich geripptes Band in Blau. Das Spektrum weist in der sichtbaren Region außer drei schwachen Streifen im Orange die zwei Hauptbänder in Gelb und Grün, ein schwächeres Band beim Übergang von Grün in Blau und das im Blau und Indigoblau liegende gegliederte Band auf.

0,0488 g in 1 l Äther ($^1/_{1000}$ Mol in 10 l).

Schicht in mm	10	20	40
Band I	—	646 / 640	646 · 640 / 636
Band II	—	622 / 619	622 / 619
Band III	—	614 / 610	614 / 610
Band IV	583 — 572	585 — 572	586 — 570 /
Band V	550 / 548 — 538 / 532	559 · 550 — 531 · 527	560 · 555 — 526 · 523
Band VI	504 / 491	507 · 487	508 · · · 486
Band VII	—	471 / 458 · 454 / 447 · · 445 /	472 · 467 / 460 · · 455 / 449 · · · 445 /
Endabsorption	422 —	430 —	434 —

Reihenfolge nach der Intensität: Endabsorption, V, IV, VI, VII, I, II, III.

Ätioporphyrin: Beim Austritt von Magnesium wird das Spektrum in der gelben und grünen Region aufgehellt, während die Absorption in Blau verstärkt wird. Ätioporphyrin zeigt ein kompliziertes Spektrum, ähnlich dem Pyrroporphyrin, mit vier starken Bändern, wovon eins im Orange, ein eigentümlich gegliedertes in der gelbgrünen Region, das nächste in Grün, das vierte, stärkste und besonders scharfe in Blau liegt; dazu kommt noch die bedeutende Absorption im Violett.

0,0464 g in 1 l Äther ($^1/_{1000}$ Mol in 10 l).

Schicht in mm	10	20	80
Band I	—	—	649 · 643
Band II	624 — — 620	624 — 619 /	633 / 626 — 618 · · 609
Band III	612 / 609	613 · 609	
Band IV	598 / 593	598 / 593	598 · · 593 /
Band V	580 · 572	581 · · · 572 ·	588 · 582 — 563 · · 556
Band VI	568 · · · 565 / 556	569 — — 564 / 556	
Band VII	533 / 530 · · 525 · · 523 · 518	536 / 531 — — 522 · · 518	545 · 538 — 519
Band VIII	505 — 479	507 — 479	514 — 475 · · · 463 ·
Endabsorption	427 —	435 —	452 —

Reihenfolge nach der Intensität: Endabsorption, VIII, VII, II, VI, V, III, IV, I.

III. Zwischenprodukte der Hämatoporphyrinbildung.

Theoretische Einleitung.

Es ist noch nicht gelungen und bietet ein wichtiges Ziel für künftige Versuche, dem Hämin das Eisen zu entziehen ohne irgendeine weitere Änderung, also die Reaktion auszuführen, die so leicht vom Chlorophyll zum Phäophytin führt, mit keinem anderen Eingriff als dem Ersatz des Magnesiums durch Wasserstoff, also nach der Gleichung:

$$C_{33}H_{32}O_4N_4FeCl + 2\,HCl = FeCl_3 + C_{33}H_{34}O_4N_4.$$

Bekanntlich enthält das beim Austritt von Metall entstehende Hämatoporphyrin sechs Sauerstoffatome gemäß der bisher angenommenen Formel $C_{34}H_{38}O_6N_4$ und der abgeänderten $C_{33}H_{38}O_6N_4$.

Alle Forscher, deren eindringende und mühevolle Untersuchungen in den letzten Jahren die Kenntnis vom Blutfarbstoff vertieft haben, William Küster, Oskar Piloty und Hans Fischer, sind der Frage nähergetreten, ob bei der Einwirkung von Bromwasserstoff auf Hämin zunächst Addition von Halogenwasserstoff und weiterhin Ersatz der Halogenatome durch Hydroxyl erfolgt oder ob diese Reaktion ohne Bildung von Zwischenprodukten verläuft.

Die Anschauungen darüber sind verschieden.

O. Piloty[1]) findet, daß die Bildung des Hämatoporphyrins ohne konstitutionelle Änderung, also ohne Addition von Halogenwasserstoff vor sich geht, und daß neben dem Austritt des Eisens nur noch die Hydrolyse von zwei Lactamgruppen erfolge.

H. Fischer, E. Bartholomäus und H. Röse[2]) berichten über einen erfolglosen Versuch, bei der Abspaltung des Eisens aus Hämin mit Hilfe von Eisessig-Chlorwasserstoff ein chlorhaltiges Zwischenprodukt nachzuweisen. Dennoch vermuten diese eine solche Zwischenstufe, aber sie schließen aus ihrer Vergänglichkeit, daß nicht an Vinylgruppen primär die Addition von Halogenwasserstoff erfolge, sondern eher an α-ständige Methingruppen.

Auch W. Küster[3]) hat das Auftreten von halogenhaltigen Zwischenprodukten dieser Reaktion geprüft und er hat vor kurzem, ohne solche zu isolieren, einen Beweis für ihre Bildung erbracht. Die Auflösung des Hämins in Bromwasserstoff-Eisessig haben nämlich Küster und Deihle abgedampft und mit Methylalkohol erwärmt; so entsteht ein

[1]) Annalen d. Chemie **377**, 314 [1910].
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **84**, 262 [1913].
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **86**, 51 [1913].

Tetramethylderivat des Hämatoporphyrins, eine Verbindung, die zugleich Äther und Ester dieser Dioxysäure ist.

Ich habe die Einwirkung von Halogenwasserstoff auf Hämin gleichfalls untersucht und die unbekannten Zwischenprodukte der Enteisenung unter verschiedenen Bedingungen isoliert, mit wässeriger Bromwasserstoffsäure, mit Bromwasserstoff-Eisessig, mit flüssigem Bromwasserstoff und mit flüssigem Chlorwasserstoff. Die bei der Reaktion mit Bromwasserstoffsäure erhaltenen Additionsprodukte sind:

$$C_{33}H_{34}O_4N_4FeBr_3$$
$$C_{33}H_{35}O_4N_4FeBr_4$$
$$C_{33}H_{38}O_4N_4Br_4$$
$$C_{33}H_{39}O_4N_4Br_5$$

Diese Verbindungen liefern durch Hydrolyse Hämatoporphyrin, das ich nach zahlreichen Bildungsweisen in einheitlichem und schön krystallisiertem Zustand erhielt, während es bisher als freie Säure nur amorph bekannt war. Zwei neue, ebenfalls krystallisierende Porphyrine, für die ich die Bezeichnung Hämino- und Hämidoporphyrin vorschlage, entstehen bei der Hydrolyse der Chlorwasserstoffadditionsprodukte. Sie sind dem Hämatoporphyrin nahe verwandt, aber durch ihre basischen Eigenschaften und ihr Verhalten in der Hitze von ihm unterschieden.

Für die Untersuchung dieser eisenfreien Häminderivate, zu denen noch einige einfachere Porphyrine hinzukommen, die Willstätter und Forsén beim Abbau mit alkoholischer Kalilauge erhielten, fand ich die Methode unentbehrlich, die zur Bestimmung und Trennung von Chlorophyllderivaten von Willstätter und Mieg[1]) geschaffen wurde. Diese beruht auf der ungewöhnlichen Differenzierung der basischen Eigenschaften dieser Verbindungen, welche sich darin zeigt, daß sich das Verhältnis ihrer Verteilung zwischen Äther und verdünnter Salzsäure mit der Säurekonzentration sehr stark ändert. Daher lassen sich die Chlorophyll- und Häminderivate kennzeichnen und auf ihre Reinheit prüfen durch die Konzentration der Salzsäure (Salzsäurezahl), welche erforderlich ist, um die Substanzen aus Äther reichlich auszuziehen, oder genauer durch quantitative Bestimmung der Verteilung zwischen Salzsäure und Äther (Verteilungszahl)[2]).

So oft auch auf die analytische und präparative Bedeutung dieser Methode aufmerksam gemacht wurde, ist sie doch leider bisher in

[1]) Untersuchungen über Chlorophyll I, Annalen d. Chemie **350**, 1 [1906].

[2]) Siehe R. Willstätter und A. Stoll, Untersuchungen über Chlorophyll, Methoden und Ergebnisse. Berlin 1913 (Verlag von J. Springer).

keinem Falle zur Prüfung der Einheitlichkeit von Häminderivaten, namentlich von Hämatoporphyrin und Mesoporphyrin, herangezogen worden.

Salzsäurezahl von	Hämatoporphyrin:	$^1/_{10}$	
„ „	Hämatoporphyrin-dimethyläther:	1	
„ „	Tetramethylverbindg. d. Hämatoporphyrins:	3	
„ „	Hämoporphyrin:	$^3/_4$;	Verteilungszahl: 23
„ „	Mesoporphyrin:	$1^1/_2$;	Verteilungszahl: 11
„ „	Ätioporphyrin:	3;	Verteilungszahl: 43.

Nicht die Isolierung der halogenhaltigen Zwischenprodukte bei der Bildung von Hämatoporphyrin war das Ziel dieser Versuche; die im folgenden Kapitel beschriebene Untersuchung ist von der Frage veranlaßt und geleitet worden, ob die Addition von Halogenwasserstoff bei der Bildung von Hämatoporphyrin einen wesentlichen Zusammenhang mit dem Austritt des Eisens hat.

Ist es eine zufällige Erscheinung, daß sich einige reaktionsfähige Stellen in erster Linie den für die Enteisenung angewandten Reagenzien darbieten und sich durch Addition absättigen? Das ist die Frage der Forscher, deren Arbeiten bisher die Additionsreaktion des Hämins behandelt haben. Die Konstitutionsformel von Küster sucht in einigen ungesättigten Gruppen, die eigentlich für die Konstitution des Farbstoffs belanglos erscheinen, den ersten Angriffspunkt der Halogenwasserstoffe.

Oder ist es die notwendige Vorbedingung für den Austritt des Eisens, daß sein komplexer Zustand zuerst gelockert wird durch eine Änderung in den Bindungsverhältnissen der beteiligten Stickstoffatome?

Es ist nach allen Beobachtungen überhaupt noch nicht gelungen, vom Hämin das Eisen abzuspalten. In den untersuchten Fällen ist nicht Hämin enteisent worden, sondern Additionsprodukte desselben. In diesen ist also das Eisen lockerer gebunden. Läßt man Halogenwasserstoff unter solchen Bedingungen einwirken, unter denen es sich nicht addiert, unter denen eher Dissoziation der Additionsprodukte erfolgt, so wird kein Eisen abgespalten.

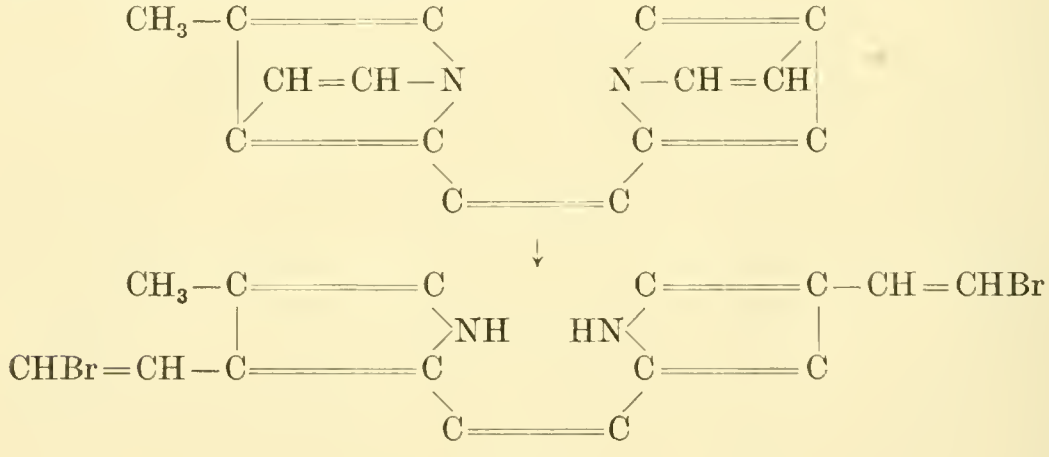
Ich erhitzte z. B. Hämin 48 Stunden lang in einem Strom von Chlorwasserstoff bei 100°. Die Löslichkeitsverhältnisse, die Reaktion mit Schwefelsäure und die Zusammensetzung, wie die folgende

Analyse des erhitzten Präparates zeigt, erwiesen das Hämin als unverändert.

0,2085 g gaben 0,4709 g CO_2 und 0,0941 g H_2O.

Berechnet für $C_{33}H_{32}O_4N_4FeCl$		Gefunden
C	61,91	61,60
H	5,04	5,05

Wenn die Addition und die Lockerung der komplexen Bindung des Eisens Hand in Hand geht, so scheint mir die Annahme richtig, daß die reagierenden Stellen an Stickstoffatome gebundene Kohlenstoffatome sind, daß also in zwei Pyrrolkernen des Hämins Brücken vom Stickstoff zu einem Ringkohlenstoffatom führen, die bei den Additionen gesprengt werden:

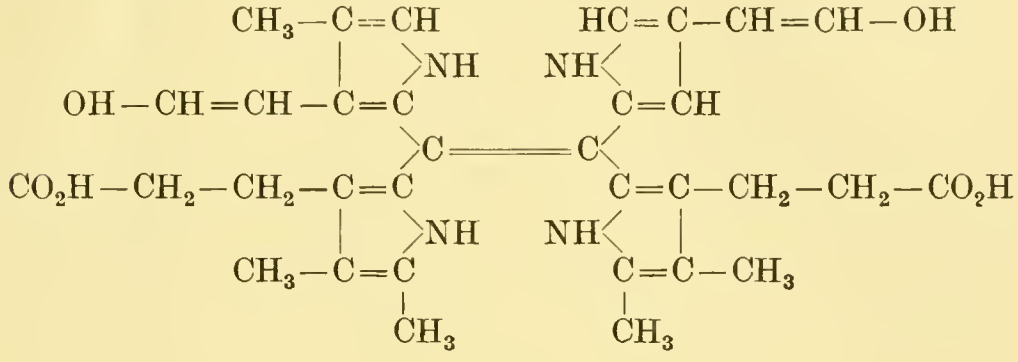


Unter diesen Verhältnissen verändert die Anlagerung von Halogenwasserstoff, von Schwefelsäure oder von Wasser die Bindungsweise zweier Stickstoffgruppen und infolgedessen ihre Wirkung auf den Eisenkomplex. Die Auflockerung desselben kann in zwei konstitutionellen Veränderungen liegen. Es ist möglich, daß die sauren Iminogruppen der Pyrrole weniger als die zuvor angenommenen tertiären Stickstoffatome für die komplexe Bindung des Metalls wirksam sind, oder die Verminderung, aber nicht Aufhebung, der Wirkung dieser beiden Stickstoffatome kann die Folge einer Verschiebung von Doppelbindungen sein, welche der aus einer Brücke hervorgegangenen Seitenkette zwei Wasserstoffatome zuführt und die Konstitution zweier Pyrrolkerne verändert[1]). Diese beiden Annahmen, zwischen denen eine

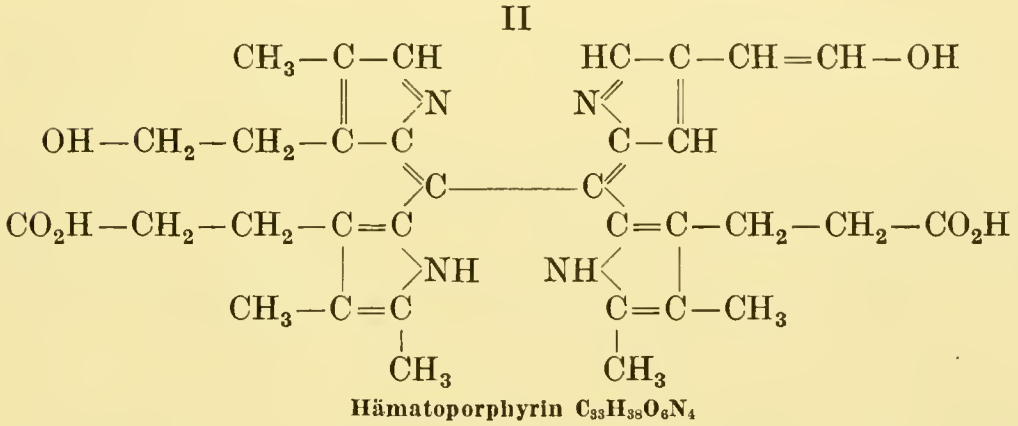
[1]) Vielleicht erklärt die besondere Anordnung der Bindungen in den Pyrrolkernen der oberen Hälfte von Formel II, daß die Porphyrine trotz einiger freier Stellen nicht mit Dimethylaminobenzaldehyd u. a. reagieren.

Entscheidung noch nicht möglich ist, finden ihren Ausdruck in folgenden Strukturformeln für Hämatoporphyrin. Die unsymmetrische (II) halte ich für wahrscheinlicher, da die Hydroxyle des Hämatoporphyrins ungleich reagieren.

I



II



Hämatoporphyrin $C_{33}H_{38}O_6N_4$

Die verwickelten Verhältnisse bei der Alkylierung des Hämatoporphyrins, die Methylierung in den alkoholischen Hydroxylen durch Methylalkohol und Chlorwasserstoff, die schon von Nencki und Zaleski[1]) festgestellt worden ist, lassen sich an Hand dieser Formeln erklären, nach welchen das Hämatoporphyrin mit den Oxymethylenverbindungen zu vergleichen ist. Auch stehen damit (nämlich mit Formel II) die sauren Eigenschaften von Hämato- und Häminoporphyrin in Einklang; diese zweibasischen Säuren absorbieren nämlich drei Moleküle Ammoniak, während Hämo- und Mesoporphyrin (wie alle zweicarboxyligen Porphyrine des Chlorophylls) nur zwei Mole Ammoniak aufnehmen[2]).

[1]) Nenckis gesammelte Werke II, 756.

[2]) H. Fischer, E. Bartholomäus und H. Röse (Zeitschr. f. physiol. Chemie 84, 271 [1913]) beschreiben eine wichtige Eigenschaft des Porphyrinogens; bei der Titration unter Verwendung von Phenolphthalein als Indicator ist es neutral.

Einwirkung wässeriger Bromwasserstoffsäure.

Von wässeriger Bromwasserstoffsäure wird Hämin in ein schön krystallisierendes Dihydrobromid verwandelt, das bei weiterer Einwirkung der Säure Hämatoporphyrin liefert.

Mit Bromwasserstoffsäure vom spez. Gewicht 1,49 reagiert Hämin auch bei mehrtägigem Schütteln nicht, mit bei 0° gesättigter Bromwasserstoffsäure hingegen verwandelt es sich allmählich in Krystalle des Oxydationsproduktes, die allein bei Anwendung von sehr viel Reagens im Laufe einiger Tage unter Verlust des Eisens in Lösung gehen. Um Hämatoporphyrin zu bilden, braucht man diese Lösung nur mit Wasser zu verdünnen, worauf das eisenfreie Dihydrobromid der Hydrolyse unterliegt. Zur Isolierung des Hämindihydrobromides ist es zweckmäßig, eine Säure vom spez. Gewicht 1,78 (ca. 66% von Kahlbaum) anzuwenden.

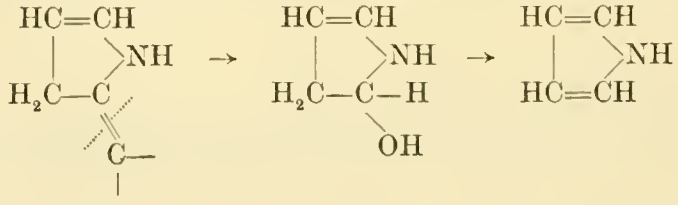
Ich schüttelte 5 g Hämin mit 200 g solcher Bromwasserstoffsäure in einer Stöpselflasche eine Stunde lang und ließ über Nacht stehen. Die Säure war dann intensiv blaurot, da schon etwa $^1/_3$ der Substanz das Eisen verloren hatte. Der ungelöste Teil ist umgewandelt; war das angewendete Hämin gepulvert, so ist die Neubildung der schönen, glitzernden Krystalle von Dihydrobromid augenfällig. Um es abzufiltrieren, verdünnte ich die Flüssigkeit mit Eisessig, die Krystalle wurden an der Pumpe mit Eisessig und mit Wasser gewaschen und im Exsiccator neben Ätzkali zur Gewichtskonstanz getrocknet. Die Ausbeute betrug 3,5 g.

Außer der Addition ist die Umwandlung der Gruppe $\rangle$FeCl in $\rangle$FeBr erfolgt.

0,2299 g gaben 0,1491 g AgBr (nach Carius),
0,1747 g gaben 0,0167 g Asche (Fe_2O_3).

Berechnet für $C_{33}H_{34}O_4N_4FeBr_3$		Gefunden
Br	28,34	27,60
Fe	6,60	6,69

Daraus ist zu schließen, daß Porphyrinogen zwei stark basische Gruppen, also Dihydropyrrole enthält. Da bei der Reduktion über Porphyrinogen hinaus jedoch fast nur Pyrrole auftreten, so handelt es sich dabei um eine hydrolytische Spaltung, die in ihrer Wirkung auf die Dihydropyrrole oxydativ ist:



Das Bromid krystallisiert sehr ähnlich dem Hämin in großen, schief abgeschnittenen Prismen, die lebhaften Glanz und schwarzblaue Farbe zeigen und deren Pulver dunkelblau ist, schöner blau als das von Hämin. Im Gegensatz zu letzterem ist das Additionsprodukt in Äther leicht löslich, namentlich beim Schütteln mit Äther und etwas Wasser oder sehr verdünnter Säure. Auch in Alkohol löst es sich sehr leicht mit intensiv rotbrauner Farbe, in dieser Lösung tritt rasch Esterbildung ein. In Eisessig lösen sich die Krystalle reichlich, aber langsam. Charakteristisch ist die Lösung in konzentrierter Schwefelsäure, nämlich schön blaurot, während Hämin sich darin weit langsamer und mit grünlichbraunroter Farbe löst.

Das Dihydrobromid verliert im Vakuum der Gaedepumpe bei 105° zwei Moleküle Bromwasserstoff.

I. 0,2265 g gaben 0,0698 g AgBr (nach Carius),
II. 0,2044 g gaben 0,0617 g AgBr (nach Carius).

Berechnet für $C_{33}H_{32}O_4N_4FeBr$	Gefunden	I	II
Br 11,68		12,70	12,85

Die Substanz wird dadurch dem Hämin wieder sehr ähnlich. Sie zeigt die Schwerlöslichkeit in allen Solvenzien und färbt konzentrierte Schwefelsäure grünlichrot an. Aber das erhitzte Bromid gleicht nicht gutem, sondern verdorbenem Hämin, es löst sich nicht mehr klar in Pyridin und läßt sich nicht aus kochsalzhaltigem Eisessig umkrystallisieren. Hämin selbst scheint eben längeres Erhitzen bei 105° auch nicht zu ertragen, wenn es schon dabei seine Zusammensetzung nicht ändert.

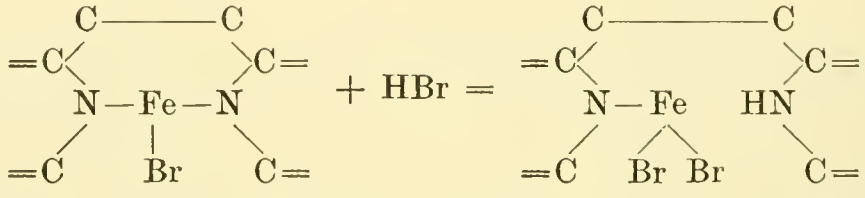
Das Dihydrobromid wird von einem großen Überschuß bei 0° gesättigter Bromwasserstoffsäure in einer Viertelstunde gelöst und enteisent, träger von der Säure 1,78.

2 g Hydrobromid ließ ich unter zeitweisem Schütteln mit 200 g wässeriger Bromwasserstoffsäure (1,78) drei Tage lang stehen; dann verdünnte ich die Lösung mit dem gleichen Volumen Wasser und filtrierte von unversehrter Eisenverbindung ab, die noch $^2/_3$ der angewandten Menge ausmachte. Um das eisenfreie Bromid vollständig zu Hämatoporphyrin zu hydrolysieren, ließ ich das Filtrat einige Stunden stehen. Dann fügte ich unter weiterem Verdünnen und ziemlich genauem Neutralisieren das Porphyrin in drei Liter Äther über. Beim Einengen auf $^1/_{10}$ des Volumens fielen daraus 0,25 g einheitliches Hämatoporphyrin (Salzsäurezahl 0,1) als schweres Krystallmehl aus, in länglichen, an den Ecken gerundeten Täfelchen von lebhaftem Glanz (Analyse I des Hämatoporphyrins).

Einwirkung von Eisessig-Bromwasserstoffsäure.

a) Trihydrobromid des Hämins, $C_{33}H_{35}O_4N_4FeBr_4$.

Bromwasserstoff-Eisessig bewirkt rascher und schon bei niedrigerer Konzentration als wässerige Bromwasserstoffsäure die Enteisenung des Hämins. Wendet man das Reagens in einer etwas zu geringen Konzentration an, so bleibt die Einwirkung bei einem Zwischenprodukt stehen, das nach seiner Zusammensetzung $C_{33}H_{35}O_4N_4FeBr_4$ durch Addition von drei Molekülen Bromwasserstoff gebildet ist. Es sind verschiedene Annahmen möglich, um diese Formel zu erklären; am wahrscheinlichsten ist es mir, daß Hämin wie bei der oben beschriebenen Verbindung zwei Moleküle Bromwasserstoff addiert hat und daß durch ein drittes die Bindung des Eisens zur Hälfte gelöst worden ist:



25 g gepulvertes Hämin wurde mit 640 g der zur Hämatoporphyrinbildung etwas zu verdünnten Eisessig-Bromwasserstoffsäure 1,40 an der Maschine geschüttelt und fünf Tage lang stehen gelassen. In dieser Zeit waren 10 bis 11 g Hämin in Lösung gegangen und enteisent; der größere Teil lag als dunkles Pulver scheinbar unangegriffen am Boden. Dieses war aber nach Zusammensetzung und Verhalten verändert. Ich verdünnte, um zu filtrieren, die Säure mit demselben Volumen Eisessig und isolierte nach dem Waschen mit Alkohol und Äther 18 g ungelösten Anteil, ein braunrotes Pulver, das unter dem Mikroskop aus korodierten häminähnlichen Krystallen bestand.

Für die Analyse wurde das Präparat bei gewöhnlicher Temperatur getrocknet.

0,2491 g gaben 0,2094 g AgBr (nach Carius).

Berechnet für $C_{33}H_{35}O_4N_4FeBr_4$	Gefunden
Br 34,49	35,77

Im Hochvakuum bei 105° erlitt die Substanz einen Gewichtsverlust von 10,6% (ber. für 1 Mol HBr: 8,5%); sie entsprach dann annähernd der Zusammensetzung $C_{33}H_{34}O_4N_4FeBr_3$ und zeigte nun ähnliche Eigenschaften wie das oben beschriebene Dihydrobromid nach seinem Erhitzen auf 105°.

Das Trihydrobromid gibt mit konzentrierter Schwefelsäure eine prächtig blaurote Lösung, und es löst sich in Alkohol leicht mit intensiv braunroter Farbe; in Äther ist es hingegen unlöslich.

Das Additionsprodukt wird von Eisessig-Bromwasserstoff in Hämatoporphyrin übergeführt, sogar, allerdings träge, von der Säure 1,40. Ich schüttelte mit 200 g derselben 7 g Bromid acht Stunden lang und ließ einige Tage stehen. Beim Eingießen in 1 l Wasser gewann ich 5 g der Eisenverbindung unverändert wieder; die verdünnte Lösung blieb zur Beendigung der Hydrolyse fünf Stunden stehen, dann wurde durch Abstumpfen der Säure mit Natriumacetat das Porphyrin in amorphem Zustand ausgefällt. Ich löste es sogleich in 200 ccm Alkohol wieder auf und brachte es daraus in 4 l Äther. Aus der mit destilliertem Wasser gründlich gewaschenen Lösung fielen nach dem Einengen auf 400 ccm 1,2 g Hämatoporphyrin in schöner Form aus, als Aggregat von deutlich krystallinischer Struktur (Analyse II und X des Hämatoporphyrins).

b) Dibromhydrat des Hämatoporphyrin-Bromwasserstoffesters, $C_{33}H_{36}O_4N_4Br_2 \cdot 2\,HBr$.

Sobald Hämin in Eisessig-Bromwasserstoff aufgelöst ist, läßt sich durch Äther das bromwasserstoffsaure Salz einer eisenfreien Verbindung fällen und von Eisenbromid trennen. Sie ist durch Addition zweier Moleküle Bromwasserstoff an die reaktionsfähigen Stellen des Hämins gebildet. Zwei von ihren Bromatomen unterliegen bei gelinder Behandlung mit Säure in der Kälte der Hydrolyse, die zum Hämatoporphyrin führt. Die beiden alkoholischen Hydroxyle desselben sind also mit Bromwasserstoff verestert.

Ich schüttelte 3 g grobe Häminkrystalle mit 75 g Eisessig-Bromwasserstoff vom spez. Gewicht 1,41 (bei 0° bestimmt) in einer Stöpselflasche während eines Tages und filtrierte die dunkelrote Lösung durch Talk; auf der Filtrierschicht bemerkte ich nichts Ungelöstes. Beim Eingießen des Filtrates in 2 l trockenen Äthers fällt das Hydrobromid in hellroten Flocken aus; nur wenn der Eisessig-Bromwasserstoff Wasser enthielt oder der Äther feucht war, entstand eine sirupöse Fällung. Der Niederschlag enthält noch etwas Eisensalz, er wird gründlich mit trocknem Äther gewaschen, dann gibt eine Probe keine Asche mehr. Das Salz ist hygroskopisch; nach dem Trocknen beträgt die Ausbeute 4 g, sie entspricht der Theorie.

Für die Analyse reinigte ich die Substanz durch Aufnehmen mit Aceton, worin sie leicht löslich ist, und Fällen mit Äther.

0,1993 g gaben 0,1770 g AgBr (nach Carius).

Berechnet für $C_{33}H_{38}O_4N_4Br_4$	Gefunden
Br 36,57	37,79

Im Hochvakuum bei 105° erleidet die Verbindung einen Gewichtsverlust von 18% (ber. für 2 HBr: 18%); sie weist dann die Zusammensetzung der freien Dicarbonsäure auf, aber die Substanz ist verdorben wie erhitztes Hämatoporphyrin.

I. 0,1711 g gaben 0,0986 g AgBr (nach Carius),
II. 0,1846 g gaben 0,1036 g AgBr (nach Carius).

Berechnet für $C_{33}H_{36}O_4N_4Br_2$	Gefunden	I	II
Br 22,45		24,52	23,88

Die Tetrabromverbindung ist auch in Alkohol leicht löslich mit blauroter, in Eisessig mit grünlichroter Farbe, noch mehr grünstichig ist die Lösung in Chloroform.

Sie wird sehr leicht hydrolysiert; man braucht sie nur in etwas Wasser aufzulösen und die rotviolette Lösung unter vorsichtigem Abstumpfen mit Natriumbicarbonat auszuäthern, um durch die Salzsäurezahl $^1/_{10}$ das gebildete einheitliche Hämatoporphyrin nachzuweisen. Bei der Gewinnung des Hämatoporphyrins erfolgt diese Reaktion nach dem Verdünnen der Auflösung von Hämin in Eisessig-Bromwasserstoff, wenn man die Flüssigkeit einige Zeit stehen läßt.

Die basischen Eigenschaften der freien bromhaltigen Säure sind viel geringer; wird sie in Aceton aufgelöst und durch Abstumpfen des Salzhalogenwasserstoffs mit wasserfreiem Natriumcarbonat in Äther übergeführt, so findet man die Salzsäurezahl höher als 3.

Übereinstimmend mit der ungleichen Reaktionsfähigkeit der beiden Hydroxyle des Hämatoporphyrins, worauf ich später zu sprechen komme, fand ich auch an den Bromatomen dieses Bromwasserstoffesters einen Unterschied in der Beweglichkeit. Bei gelinder Einwirkung von Alkaliacetat auf das beschriebene Bromid reagiert nämlich nur ein Bromatom, und zwar wird es wahrscheinlich gegen die Gruppe CH_3COO— ausgetauscht unter Bildung der Acetylverbindung eines primären Bromwasserstoffesters von Hämatoporphyrin.

Versetzt man im Reagierglas die Lösung des Bromides $C_{33}H_{38}O_4N_4Br_4$ in Eisessig mit Äther und dann mit einem Krystall von Natriumacetat, so schlägt die Farbe rasch von Grün in Braunrot um. Dieselbe Reaktion läßt sich mit der Auflösung von Hämin in Bromwasserstoff-Eisessig ausführen; anstatt zu verdünnen und nach einigem Stehen das Por-

phyrin zu fällen, braucht man nur zuerst mit Alkaliacetat abzustumpfen und dann zu verdünnen. Ich vermischte die Auflösung von 7 g Hämin in 200 g Bromwasserstoff-Eisessig mit demselben Volumen Eisessig, filtrierte und trug unter Rühren 100 g krystallisiertes Natriumacetat ein; dabei ändert sich die Nuance der Flüssigkeit von bräunlichem Rot zu Violettrot. Bei Zusatz von Wasser fiel ein braunrotes Pulver aus (9 g).

0,2179 g gaben 0,0604 g AgBr (nach Carius).

Berechnet für $C_{33}H_{35}O_4N_4Br \cdot CH_3CO_2$		Gefunden
Br	11,58	11,80

Beim Erhitzen im Hochvakuum auf 105° wurden von dem aus Äther krystallisierten Präparat 11,5 und 10,4% des Gewichts verloren (ber. für 1 CH_3CO_2H: 8,6%; vergleiche das Verhalten des Monoacetylhämatoporphyrins). Der Bromgehalt stieg dabei auf 12,6 und 12,9%. Die Monobromverbindung krystallisiert prächtig aus ätherischer Lösung, wenn man das frisch dargestellte Präparat mit absolutem Alkohol aufnimmt, in viel Äther einträgt und nach dem Wegwaschen des Alkohols einengt. Ich erhielt große, in der Durchsicht rubinrote Doppelpyramiden.

Bei langem Stehen in verdünnter Salzsäure wird die Substanz zu Hämatoporphyrin hydrolysiert.

Einwirkung von flüssigem Bromwasserstoff.

Durch Behandeln mit flüssigem Bromwasserstoff wird Hämin bei gewöhnlicher Temperatur glatt enteisent; die entstehende Bromverbindung läßt sich (anders als es bei Anwendung von Chlorwasserstoff der Fall ist) vom abgespaltenen Eisensalz leicht trennen.

Ein Einschlußrohr wurde mit 5 g Häminkrystallen beschickt und darin durch Kühlen mit flüssiger Luft 10 bis 15 g mit $CaBr_2$ getrocknetes Bromwasserstoffgas verdichtet. Die Einleitungsröhre läßt man, damit sie durch den krystallisierenden Bromwasserstoff nicht verstopft wird, etwa 1 cm über dem Dewargefäß enden. Nach dem Zuschmelzen der Röhre und Erwärmen auf Zimmertemperatur geht das Hämin mit grünlichvioletter Farbe klar in Lösung. Nach eintägigem Stehen kühlte ich wieder mit Kohlensäure-Äther, um die Röhre zu öffnen. Das Bromwasserstoffgas wurde unter Vermeidung der Feuchtigkeitsanziehung bei gewöhnlicher Temperatur, am Ende im Vakuum verjagt; dabei hinterblieb ein metallglänzendes, zerfließliches Produkt von violetter Farbe (10,3 g). Durch mehrmaliges gründliches Verreiben mit Äther habe ich das Eisenbromid vollständig daraus entfernt. Die

Substanz war dann nicht mehr hygroskopisch, sie bildete eine spröde und glänzende, in der Durchsicht violette bis rote blätterige Masse, die keine Krystallformen zeigte.

0,2264 g gaben 0,2172 g AgBr (nach Carius).

Berechnet für $C_{33}H_{39}O_4N_4Br_5$		Gefunden
Br	41,85	40,83

Das Salz ist unlöslich in Äther, leicht löslich in den Alkoholen und Aceton; man kann daher das Rohprodukt vom Eisenbromid gut trennen durch wiederholtes Auflösen in Aceton und Fällen mit Äther.

Das Pentabromid stimmt im Verhalten mit der aus Eisessig-Bromwasserstoff gefällten Tetrabromverbindung überein; mit ihm sind einige Umwandlungen, die bei dem Tetrabromid nicht erwähnt oder nur angedeutet wurden, genauer untersucht worden. Wenn es auch nicht entschieden ist, ob die Verbindung das Salz eines Dihydrobromids mit drei Molen Bromwasserstoff oder das Salz eines Trihydrobromids mit zwei Molen Bromwasserstoff ist, so sind ihre Reaktionen doch einfach die des sekundären Bromwasserstoffesters von Hämin.

Stumpft man den Bromwasserstoff des Salzes bis zum Verschwinden des grünlichen Tones der Acetonlösung ab, so entsteht eine Tribromverbindung. Ich löste 1 g Pentabromid in 50 ccm Aceton und schüttelte mit etwas wasserfreiem Natriumcarbonat; aus dem Filtrat wurde mit Petroläther ein rotviolettes Pulver gefällt.

0,2210 g gaben 0,3981 g CO_2 und 0,1024 g H_2O.

Berechnet für $C_{33}H_{37}O_4N_4Br_3$		Gefunden
C	49,93	49,13
H	4,70	5,19

Das Abstumpfen des Bromwasserstoffs führt bei Gegenwart von Äther weiter zur Bildung einer ätherlöslichen Verbindung, die nur zwei Bromatome enthält. Ich nahm 1 g eisenfreies Pentabromid in 20 ccm Aceton auf und fällte es mit 100 ccm trocknem Äther in feiner Verteilung wieder aus. Beim Schütteln mit etwas wasserfreiem Natriumcarbonat entstand in $^1/_4$ Stunde eine klare rotbraune Lösung, die filtriert und für die Analyse sofort mit niedrig siedendem Petroläther in Flocken gefällt wurde (0,6 g). Die entstandene Verbindung ist sehr zersetzlich; beim Verdunsten der Aceton-Äther-Lösung bei tiefer Temperatur unter Anwendung einer mit flüssiger Luft gekühlten Vorlage oder bei raschem Abdampfen auf dem Wasserbade nimmt die Flüssigkeit wieder grünliche Farbe an, was auf Abspaltung von an Kohlenstoff gebundenen Bromwasserstoff und Salzbildung hindeutet.

Einmal isoliert, ist das Dibromid nicht mehr leicht löslich in Äther, hingegen in Alkohol und Aceton. 2,5 proz. Salzsäure löst es sehr gut mit violetter Farbe unter rascher Bildung von Hämatoporphyrin.

0,1990 g gaben 0,1007 g AgBr (nach Carius).

Berechnet für $C_{33}H_{36}O_4N_4Br_2$	Gefunden
Br 22,44	22,09

Umwandlung in Hämatoporphyrin.

Das aus Aceton mit Äther umgefällte Pentabromid (5 g) habe ich unter gelindem Erwärmen in 20 proz. Salzsäure (1 l) gelöst und von dunkeln Flocken abfiltriert. Die Hydrolyse war sogleich beendet; aus der Säure führte ich das Produkt, welches kein Brom mehr enthielt, unter fast vollständigem Neutralisieren mit Ammoniak in 15 l Äther über und dampfte die Lösung bis auf 1 l ein. Nun schied sich das Hämatoporphyrin als schönes Krystallmehl aus (1,2 g), worin sehr oft eine typische Form zu beobachten war: an beiden Enden abgerundete längliche Blättchen (Analyse III des Hämatoporphyrins).

Dimethyläther des Hämatoporphyrins.

Vom eisenfreien Pentabromid löste ich im Silbertiegel 1 g in 50 ccm konzentrierter methylalkoholischer Kalilauge unter gelindem Erwärmen und brachte aus der prächtig roten Flüssigkeit durch Verdünnen und Ansäuern die Substanz in Äther. Nach dem Wegwaschen des Holzgeistes und Einengen krystallisierte die Dimethoxyverbindung in einheitlichen geraden Prismen und Nadeln (siehe Analyse I des Dimethyläthers).

Dimethyläther-Dimethylester.

Der Ester der Dimethoxyverbindung entstand durch Einwirkung von Methylalkohol bei Zimmertemperatur auf das Pentabromid. 2 g davon ließ ich mit 100 ccm Methylalkohol drei Tage lang stehen, bis die ganze Menge ihre sauren Eigenschaften verloren hatte. Dann führte ich den Ester in Äther über und engte nach dem Waschen mit verdünnter Lauge und mit viel Wasser bis auf wenige Kubikzentimeter ein. Die sehr leicht lösliche Tetramethylverbindung (1,1 g) krystallisierte in großen, glänzenden Doppelpyramiden aus; im Schmelzpunkt 163°, in der Salzsäurezahl 3 und in der Zusammensetzung stimmte sie mit einem aus Hämatoporphyrin gebildeten Präparat überein (siehe Analyse I des Tetramethylderivates).

Bei der Einwirkung von flüssigem Chlorwasserstoff auf Hämin und darauffolgende Behandlung mit Methylalkohol entsteht eine andere Methylverbindung, die im folgenden beschrieben wird; zu demselben Dimethyläther-Dimethylester kam ich indessen, wenn ich zuerst Bromwasserstoff, dann flüssigen Chlorwasserstoff einwirken und die Halogenverbindung mit Methylalkohol umsetzen ließ (Analyse II des Tetramethylderivates).

Einwirkung von flüssigem Chlorwasserstoff.

Flüssiger Chlorwasserstoff reagiert mit dem Hämin schon bei so tiefer Temperatur, daß man im offenen Gefäß damit arbeiten kann. Die Einwirkung liefert ungleich zusammengesetzte und verschieden reagierende Produkte, je nachdem sie im offenen Rohre beim Schmelzpunkt des Chlorwasserstoffs oder im geschlossenen Rohre bei Zimmertemperatur vorgenommen wird. Die entstandenen Chloride waren unter keinen Umständen durch gewöhnliche Lösungsmittel vom Eisenchlorid zu trennen, z. B. durch Fällen aus Aceton mit Äther, übrigens auch nicht durch erneute Behandlung mit einem Gemisch gleicher Volumina von Eisessig und flüssiger Chlorwasserstoffsäure im Einschlußrohr. Aber das Eisen ist nur noch ganz locker gebunden; wenn man auf die mit flüssigem Chlorwasserstoff gebildeten Produkte Wasser, Alkohol, Säuren oder Alkalien in der Kälte einwirken läßt, so entstehen sogleich eisenfreie Verbindungen. Das Eisen substituiert also nicht mehr das Porphyrin, sondern Eisenchlorid ist an die Chlorwasserstoffverbindungen addiert.

Ich ließ im offenen Rohr unter Vermeidung von Feuchtigkeitszutritt flüssigen Chlorwasserstoff zu Häminkrystallen fließen; er wirkte augenblicklich ein und gab eine blaurote Lösung. Dann wurde in einigen Minuten der Chlorwasserstoff verdampft und ein spröder, hygroskopischer, glänzend violetter Rückstand (6,2 aus 5 g) erhalten. Nach dem Umfällen betrug der Eisengehalt noch 4,2 bis 4,7%.

Umgefälltes Präparat: 0,1822 g gaben 0,1663 g AgCl (nach Carius).

Berechnet für $C_{33}H_{36}N_4O_4FeCl_5$		Gefunden
Cl	22,57	22,58
Fe	7,11	—

Dieses Chlorid behandelte ich bei gewöhnlicher Temperatur mit Methylalkohol; es dauerte eine Woche, bis die Esterbildung fast vollständig war. Dabei entstand eine Dimethylverbindung (gefunden OCH_3: 9,9 und 11,0%), die aus Äther in glänzenden, braunen, rhombenförmigen

Blättchen krystallisierte. Sie war mit keinem Methylderivat des Hämatoporphyrins identisch, nämlich viel schwächer basisch als diese.

Zumeist führte ich die Behandlung des Hämins mit wasserfreier Salzsäure im geschlossenen Rohre aus, um die eigentümlichen Porphyrine zu untersuchen, zu welchen die Hydrolyse der so entstehenden Chlorwasserstoffverbindungen führt. Diese Porphyrine (Häminoporphyrin und Hämidoporphyrin) sind vom bekannten Hämatoporphyrin und seinen Derivaten verschieden, doch fand ich bei ihnen schon einige Übergänge zu Hämatoporphyrin. Im folgenden Kapitel sollen diese Verbindungen beschrieben werden, ohne daß es mir schon möglich wäre, zu erklären, wodurch der verschiedene Reaktionsverlauf bei Anwendung von Chlorwasserstoff und Bromwasserstoff bedingt ist. Auch der Chlorwasserstoff ist einesteils an ungesättigte Stellen addiert, anderseits sättigt er die basischen Gruppen ab; hingegen wirkt selbst wasserfreie Salzsäure nicht auf die Carboxyle ein. Um über die Möglichkeit der Bildung von Säurechloriden Anhaltspunkte zu gewinnen, habe ich eine größere Zahl von Carbonsäuren, darunter auch Phylloporphyrin, mit flüssigem Chlorwasserstoff im geschlossenen Rohre behandelt, aber unverändert wiedergewonnen. Hämatoporphyrin reagiert nur mit seinen beiden alkoholischen Hydroxylen. Auch die Lactamgruppen von Glykokollanhydrid widerstanden dem Reagens.

Ich beschicke die Einschlußröhre mit je 5 g Häminkrystallen und kondensiere darin etwa die doppelte Menge Chlorwasserstoff unter Kühlung mit flüssiger Luft und vermeide Feuchtigkeitszutritt. Während wässerige Salzsäure, auch bei tiefer Temperatur gesättigt, und Chlorwasserstoff-Eisessig bei gewöhnlicher Temperatur kein Lösungsmittel für Hämin ist, geht dieses in der wasserfreien Säure sofort mit prächtig blauroter Farbe in Lösung; sie zeigt nicht das grünliche Tingieren wie die Bromwasserstoffsäure. Die Röhren werden zugeschmolzen — man muß wegen der Explosionsgefahr vorsichtig mit ihnen umgehen — und nach etwa einem Tag wieder geöffnet, indem man sie, entweder nur mit Kohlensäure-Äther oder zuerst damit und dann mit flüssiger Luft abkühlt[1]). Der Chlorwasserstoff wird bei gewöhnlicher Temperatur verdunstet, am Ende unter vermindertem Druck; zu starkes Schäumen läßt sich vermeiden, indem man die Röhre in ein leeres Dewargefäß stellt. Der Rückstand (7 g) ist eine hygroskopische, metallglänzende blätterige Masse von violetter Farbe.

---

[1]) Die mit Chlorwasserstoff beschickten Röhren unmittelbar mit flüssiger Luft abzukühlen, ist gefährlich.

Von verdünnter Säure wird die Substanz unter gleichzeitigem Verlust des Eisens hydrolytisch gespalten; beim Behandeln mit methylalkoholischer Kalilauge nimmt sie zwei Methoxyle auf und liefert den auch aus dem Bromid erhaltenen Dimethyläther des Hämatoporphyrins (siehe bei diesem Analyse V).

Vergebens versuchte ich, durch Umfällen z. B. aus Aceton mit Äther das Präparat von Eisenchlorid zu befreien. Das Hydrochlorid fällt in hellroten, zerfließlichen Flocken wieder aus, die ein ziegelfarbenes Pulver bilden, die Mutterlauge enthält nur eine geringe Menge Eisen.

Die Analyse ergibt viel weniger Eisen als ein Atom für C_{33}; die untenstehende Formel gibt nur einen Anhaltspunkt für die aufgenommene Salzsäure.

Rohprodukt I. 0,1141 g gaben 0,0080 g Asche (Fe_2O_3),
II. 0,2145 g verbrauchten 44,42 ccm $n/_{250}$-Thiosulfat (Säureveraschung nach Neumann),
1 mal umgefällt III. 0,1959 g gaben 0,2102 g AgCl (nach Carius),
2 mal umgefällt IV. 0,1802 g gaben 0,1778 g AgCl (nach Carius).

Berechnet für $C_{33}H_{37}O_4N_4FeCl_6$		Gefunden	I	II	III	IV
Cl	25,89		—	—	26,54	24,41
Fe	6,79		4,90	4,79	—	—

H. Fischer[1]) hat vor kurzem mitgeteilt (meine Versuche über die Hämatoporphyrinbildung waren beim Erscheinen jener Arbeit schon beendet), daß mit Eisessig-Chlorwasserstoff bei 100° Hämin gelöst werde. Ein chlorhaltiges Zwischenprodukt wurde nicht erhalten, dagegen Hämatoporphyrin in amorphem Zustand; nur das Chlorhydrat war krystallisiert wie schon bei Nencki und Sieber[2]). Ich bin überzeugt, daß dennoch als Reaktionsprodukt eine chlorhaltige Zwischenstufe vorlag und daß es nur nicht gelungen ist, sie vom Eisensalz zu trennen. Bei der zur Entfernung des Eisens vorgenommenen Behandlung mit Natronlauge wird die Hydrolyse des Chlorwasserstoffadditionsproduktes erfolgt sein.

Die Mittel, mit denen das Eisen auch aus diesen Chlorverbindungen entfernt werden kann, sind Bromwasserstofflösungen und reiner Bromwasserstoff. Das eisenhaltige Produkt löst sich sehr leicht in Eisessig-Bromwasserstoff (1,41); durch Eingießen in Äther entsteht sogleich ein eisenfreier Niederschlag. Ich schmolz das Produkt der Reaktion

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **84**, 262, 282 [1913].
[2]) Monatshefte f. Chemie **9**, 115 [1888].

mit flüssigem Chlorwasserstoff ferner mit flüssigem Bromwasserstoff in Röhren ein; in der üblichen Weise isoliert und mit Äther behandelt, gab das Halogenid keine Asche mehr. Es enthielt nun Chlor und Brom und stimmte in seinen Reaktionen mit den oben beschriebenen Bromiden überein. Beim Auflösen in Methylalkohol und viertägigem Stehen entstand dann die Tetramethylverbindung des Hämatoporphyrins (1,2 g aus 2 g eisenhaltigem Chlorid), das in schönen Pyramiden krystallisierte (Analyse III des Methylderivates).

Von den Umwandlungsprodukten des eisenhaltigen Chlorids soll hier nur vergleichsweise die Methylverbindung angeführt werden, die beim Auflösen des Rohproduktes (5 g) in Methylalkohol (100 ccm) entstand. In diesem Falle war schon in einem Tage die Esterbildung vollständig, eine Probe gegen verdünnte Natronlauge indifferent. Ich führte die Verbindung in Äther über und erhielt schon bei mäßigem Einengen eine Krystallisation langer, dünner, netzartig verfilzter Nadeln von brauner Farbe in der Durchsicht. Sie sind in Äther leicht löslich, aber erheblich schwerer wie die Pyramiden des schon beschriebenen Tetramethylderivates. In der Salzsäurezahl 3 stimmen sie mit letzterem überein, auch der Schmelzpunkt ist ganz ähnlich: 165°, nach längerem vorangehendem Sintern. Es liegt gleichfalls eine Tetramethylverbindung vor, aber sie ist anders zusammengesetzt als die erste. Ihre Verseifung gibt den Dimethyläther des Hämatoporphyrins (Analyse III und IV der Dimethoxysäure).

0,1775 g gaben 0,2347 g AgJ (nach Zeisel),

0,2090 g gaben 0,5062 g CO_2 und 0,1263 g H_2O.

Berechnet für $C_{37}H_{50}O_8N_4$		Gefunden	
C	65,45	—	66,05
H	7,43	—	6,76
OCH_3	18,29	17,46	—

IV. Die Porphyrine mit mehr als vier Sauerstoffatomen (Gruppe des Hämatoporphyrins).

Darstellung in amorphem Zustand.

M. Nencki und N. Sieber[1]) haben die Bildung des Hämatoporphyrins durch Einwirkung von Bromwasserstoff-Eisessig auf Hämin bei Wasserbadtemperatur beschrieben. Nencki und J. Zaleski[2])

[1]) Monatshefte f. Chemie **9**, 115 [1888]; Nenckis gesammelte Werke II, 74.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **30**, 384, 423 [1900]; Nenckis Werke II, 753.

haben die Darstellung verbessert, ihre Angaben sind bis heute nur in geringen Einzelheiten abgeändert worden. Nach ihrer Vorschrift arbeitet man bei gewöhnlicher Temperatur mit Bromwasserstoff-Eisessig (bei 10° gesättigt von Kahlbaum käuflich), zweckmäßig in kleinen Portionen von Hämin; die Einwirkung dauert 3 bis 4 Stunden, beim Verdünnen mit Wasser und mehrstündigem Stehen soll nur ein kleiner Bodensatz ausfallen, von dem man abfiltriert.

O. Piloty[1]) hat den Verlauf der Hämatoporphyrinbildung untersucht und Angaben über die Methode veröffentlicht; er verwendet bei 0° gesättigten Eisessig-Bromwasserstoff, nach etwa sechstägiger Behandlung wird die Flüssigkeit mit Wasser verdünnt und ohne weiteres Stehenlassen Hämatoporphyrin ausgefällt, und zwar durch Zusatz von Natriumacetat in der Form eines Ferrisalzes. Piloty bemerkt dazu:

„Es ist uns auf keine Weise gelungen, ein bromhaltiges Zwischenprodukt bei der Hämatoporphyrinbildung zu isolieren. Und es ist äußerst unwahrscheinlich, daß unter den milden Bedingungen, wie wir sie oben geschildert haben, an Kohlenstoff gebundenes Brom quantitativ durch Hydroxyl ersetzt werde."

Nach den letzten Angaben von W. Küster[2]) soll umkrystallisiertes Hämin in 10 Portionen von 0,5 g in 100 g Eisessig-Bromwasserstoff im Laufe von 5 Tagen unter möglichstem Ausschluß von Luftfeuchtigkeit eingetragen werden. Nach dem Verdünnen mit Wasser läßt dieser Autor 5 Stunden lang stehen, versetzt mit Natronlauge bis zur schwach sauren Reaktion und fällt mit Natriumacetat das Hämatoporphyrin vollständig aus.

Für den wichtigsten Umstand bei der Gewinnung des Hämatoporphyrins halte ich die geeignete Konzentration des Eisessig-Bromwasserstoffs. Die von Kahlbaum käufliche Säure schwankt in ihrem Bromwasserstoffgehalt erheblich, manchmal eignet sie sich zum Lösen des Hämins, manchmal nicht. Zumeist fand ich im Handel eine Säure vom spez. Gewicht 1,40 (bei 0° bestimmt); sie löst Hämin sehr schlecht, sie verwandelt es hauptsächlich in die beschriebene Verbindung $C_{33}H_{35}O_4N_4FeBr_4$. Sättigt man den Eisessig-Bromwasserstoff bei 0°, so löst das Reagens wieder auffallend schlecht, auch hier entsteht Additionsprodukt. Die geeignete Konzentration ist 1,41 (bei 0° be-

---

[1]) Annalen d. Chemie **377**, 314, 351 [1910].

[2]) W. Küster und P. Deihle, Zeitschr. f. physiol. Chemie **86**, 51, 60 [1913]; Chem. Ber. **45**, 1941 [1912].

stimmt), dann braucht man Hämin nicht zu pulvern, nicht mit kleinen Portionen zu arbeiten, nicht langsam einzutragen und nicht tagelang stehen zu lassen.

Eine wichtige, bis jetzt zu wenig hervorgehobene Phase in der Umwandlung von Hämin in Hämatoporphyrin ist das Stehenlassen der mit Wasser verdünnten Bromwasserstoff-Eisessiglösung. Dabei erfolgt nämlich die Einführung der Hydroxyle an Stelle der Bromatome des addierten Halogenwasserstoffs. Man kann zwar diese Hydrolyse überspringen und sie durch längeres Waschen des Niederschlages auf dem Filter oder durch Behandeln mit verdünnter Natronlauge nachholen, das ist aber für die Darstellung eines reinen Präparates nicht zu empfehlen. Zur Prüfung der Präparate auf Reinheit und Einheitlichkeit war mir hier die Methode der Bestimmung der Salzsäurezahl nach den Angaben von Willstätter und Mieg[1]) unentbehrlich. Die ätherische Lösung von Hämatoporphyrin gibt an 0,03 proz. Salzsäure Spuren, an Säure von 0,1 bis 0,15 etwa zwei Drittel, an 0,4 proz. bei einmaligem Durchschütteln fast die ganze Menge ab. Wenn ich die nach nachstehendem Verfahren erhaltenen Rohprodukte in Fraktionen zerlege, so stimmen sie in der Verteilung zwischen Salzsäure und Äther überein. Halogenhaltige und andere unreine Präparate enthalten schwachbasische Anteile und lassen sich durch die Fraktionierung mit Salzsäure reinigen.

Ich trug z. B. 36 g Häminkrystalle auf einmal in eine Stöpselflasche mit 900 g Eisessig-Bromwasserstoff (1,41) ein und schüttelte eine Viertelstunde lang. Dann ging beim Stehen in 7 Stunden der Farbstoff klar in Lösung. Die Menge des Eisessig-Bromwasserstoffs läßt sich etwas vermindern; 4 g wurden schon in 75 g Eisessig-Bromwasserstoff in 24 Stunden (an einem Sommertag) vollständig gelöst. (Nach Küster werden 20, nach Piloty etwa 32 Gewichtsteile vom Reagens verwendet.)

Die Auflösung aus 36 g wurde in 5 l Wasser eingetragen und durch eine dünne Talkschicht von wenig körnigen Partikeln abfiltriert. Die Flüssigkeit blieb 3 Stunden stehen, ehe ich sie mit konzentrierter Natriumacetatlösung fällte. Das Porphyrin schied sich in braunvioletten Flocken aus, die bei gewöhnlicher Temperatur getrocknet wurden. Die Ausbeute an diesem (eisenhaltigen) Produkt betrug 34 g. Durch Auflösen in Natronlauge, Filtrieren vom Eisenhydroxyd und Ansäuern mit Essigsäure wurde es aschefrei.

---

[1]) Untersuchungen über Chlorophyll I, Annalen d. Chemie **350**, 1 [1906].

Darstellung von krystallisiertem Hämatoporphyrin.

Nach dem Umfällen des Hämatoporphyrins aus verdünnter Natronlauge mit Essigsäure saugte ich die flockige Fällung auf Koliertuch ab und verdrängte die Mutterlauge mit Wasser. Dann löste ich das noch feuchte Präparat aus 10 g Hämin in 1 l Alkohol und trug die Lösung in 25 l Äther ein, die auf fünf 7-l-Scheidetrichter verteilt waren. Der Alkohol wurde weggewaschen, indem ich durch jeden Scheidetrichter etwa 20 Minuten lang am Brunnen Wasser durchfließen ließ. Dabei fiel allerdings etwas flockiges Calciumsalz aus, das ich sammelte, um es mit Säure zu zersetzen und das entbundene Porphyrin zur Hauptmenge zurückzubringen. Die ätherische Lösung wurde mit Natriumsulfat getrocknet und auf 1 l eingeengt. Bei diesem Volumen beginnt schon in der Wärme das Hämatoporphyrin auszufallen. Ich ließ nun die Ätherlösung bei gewöhnlicher Temperatur stehen und erhielt das Porphyrin als glänzende violette Krystallisation, die aus schönen gerundeten, in der Durchsicht rotbraunen Blättchen bestand. Der Betrag des auskrystallisierten Anteils war 4,5 g, diese Ausbeute würde sich leicht noch erhöhen lassen.

In krystallisiertem Zustand habe ich Hämatoporphyrin auch aus den verschiedenen Zwischenprodukten der Enteisenung mit Bromwasserstoff sowie bei der Hydrolyse seines Esters erhalten.

Analyse.

Für die Analyse sind die krystallisierten Präparate im Vakuumexsiccator getrocknet worden, die Werte weisen beträchtliche Schwankungen auf, infolge eines kleinen Wassergehaltes, den man leider nicht ohne Erhitzen entfernen kann.[1]) Sie stimmen aber durchwegs besser für die Formel mit C_{33} als für C_{34}. Dasselbe gilt von den Analysen des freien Hämatoporphyrins in amorphem Zustand und des krystallisierten Chlorhydrates, die Nencki und Sieber[2]) veröffentlicht haben.

Chlorhydrat:

	nach Nencki und Sieber			H. Fischer[3])	
C	59,80	59,79	59,57	59,50	60,64
H	6,16	5,89	6,29	6,08	6,48

[1]) Siehe den Gewichtsverlust von Hämatoporphyrin bei 105° und Hochvakuum.

[2]) Nenckis gesammelte Werke II, 78.

[3]) H. Fischer, E. Bartholomäus und H. Röse, Zeitschr. f. physiol. Chemie 84, 281 [1913].

Berechnet für	$C_{34}H_{40}O_6N_4Cl_2$	$C_{33}H_{40}O_6N_4Cl_2$
C	60,81	60,07
H	5,96	6,12

Freies Porphyrin:

	nach Nencki und Sieber				H. Fischer	W. Küster[1])
C	66,84	67,16	66,98	66,85	67,20	68,63
H	6,32	6,56	6,21	6,53	6,33	6,15

Berechnet für	$C_{34}H_{38}O_6N_4$	$C_{33}H_{38}O_6N_4$
C	68,19	67,54
H	6,40	6,53

I. Kryst. Präp. aus $C_{33}H_{34}O_4N_4FeBr_3$
0,2142 g gaben 0,5241 g CO_2 und 0,1260 g H_2O

II. Kryst. Präp. aus $C_{33}H_{35}O_4N_4FeBr_4$
0,1936 g gaben 0,4732 g CO_2 und 0,1134 g H_2O

III. Kryst. Präp. aus $C_{33}H_{39}O_4N_4Br_5$
0,2178 g gaben 0,5359 g CO_2 und 0,1288 g H_2O

IV. Kryst. Präp., aus Aceton umgefällt
0,2462 g gaben 0,6030 g CO_2 und 0,1448 g H_2O

V. Amorph. Präp. aus Dimethylester mit Alkali
0,2149 g gaben 0,5297 g CO_2 und 0,1298 g H_2O

VI. Kryst. Präp. aus Dimethylester mit Säure
0,2532 g gaben 0,6226 g CO_2 und 0,1475 g H_2O

VII. Kryst. Präp. aus Häminoporphyrin mit wässeriger HBr
0,1996 g gaben 0,4914 g CO_2 und 0,1184 g H_2O

VIII. Kryst. Präp. von der Verseifung des Esters aus Häminoporph.
0,2215 g gaben 0,5459 g CO_2 und 0,1322 g H_2O

Gefunden	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
C	66,73	66,60	67,09	66,80	67,47	67,04	67,14	67,22
H	6,58	6,55	6,62	6,58	6,78	6,52	6,64	6,68

Im Hochvakuum bei 105° verliert Hämatoporphyrin Wasser; bei verschiedenen Darstellungen fand ich Gewichtsverluste von 5,6 und 5,07% (berechnet für 1 Mol H_2O: 3,0%); die Analyse stimmt dann für eine Verbindung mit fünf Sauerstoffatomen.

IX. Kryst. Präp. aus Hämin mit wässeriger HBr
0,1962 g gaben 0,5021 g CO_2 und 0,1131 g H_2O

X. Kryst. Präp. aus $C_{33}H_{35}O_4N_4Br_4$
0,2180 g gaben 0,5562 g CO_2 und 0,1209 g H_2O

[1]) Chem. Ber. **45**, 1941 [1912].

Berechnet für	$C_{34}H_{36}O_5N_4$	$C_{33}H_{36}O_5N_4$	Gefunden	IX	X
C	70,31	69,68		69,79	69,58
H	6,25	6,39		6,45	6,21

Als ich bei 105° an der Quecksilberpumpe das Trocknungskölbchen (unter Zwischenschaltung einer mit Blattgold gefüllten Röhre) mit einer durch flüssige Luft gekühlten Vorlage verband, gab das Hämatoporphyrin noch ein weiteres Molekül Wasser ab (Gewichtsverlust 7,5 und 5,9%); seine Zusammensetzung entsprach dann einer Formel mit vier Sauerstoffatomen. Die in der Vorlage kondensierte Flüssigkeit habe ich mittels der Elementaranalyse untersucht; sie war fast reines Wasser und enthielt nur eine Spur organische Substanz.

Alle erhitzten Präparate von Hämatoporphyrin waren gänzlich verdorben, schwach basisch, unlöslich, unkrystallisierbar. Bei dem Versuch, sie wieder in Äther überzuführen, war die Hauptmenge unlöslich, ein kleiner Anteil, der in Äther gebracht werden konnte, ließ sich erst mit 2- bis 3proz. Salzsäure ausschütteln und ging in diese mit grünstichig roter anstatt violetter Farbe. Die Carboxyle sind an dieser Veränderung unbeteiligt, das Verhalten gegen Ammoniak ist nach der Trocknung dasselbe wie zuvor.

In trockenem Ammoniakgas nimmt Hämatoporphyrin merkwürdigerweise [ebenso wie in wässerigem Ammoniak nach der Beobachtung von W. Küster[1])] drei Moleküle NH_3 auf, die schon im nicht evakuierten Exsiccator langsam aber vollständig wieder abgegeben werden. Gefunden mit exsiccatortrockenem Präparat 7,1 und 7,5%, mit dem bei 105° getrockneten 7,1 und 7,2%, berechnet für drei NH_3: 8,7%.

Da also weder Anhydrid- noch Lactonbildung stattgefunden hat, so ist allein von den alkoholischen Hydroxylen des Hämatoporphyrins Wasser abgespalten worden und das gebildete Produkt hat sich polymerisiert.

W. Küster[2]) hat in seinen letzten Untersuchungen mitgeteilt, daß Hämatoporphyrin durch verdünnte Schwefelsäure in einen sowohl in Säure wie in Alkali unlöslichen, sehr resistenten Körper übergeführt und daß es schon durch Aceton bei gewöhnlicher Temperatur verändert werde, nämlich durch intramolekulare Ätherbildung Wasser verliere. Bei diesen Angaben ist leider das Verhalten des Hämatoporphyrins in der Hitze nicht berücksichtigt worden. Die von Aceton

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **86**, 63 [1913].
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **86**, 60 und Chem. Ber. **45**, 1942.

scheinbar veränderten Präparate wurden für die Analyse bei 120° getrocknet und stimmten demnach für eine Formel mit fünf Sauerstoffatomen. Ich habe die Einwirkung von Aceton nach den Angaben von Küster wiederholt. Das aus Acetonlösung zurückgewonnene und im Exsiccator getrocknete Präparat war nach allen Eigenschaften und nach der oben angeführten Analyse IV unverändert.

Das Chlorhydrat stellte ich durch Auflösen des Hämatoporphyrins in mäßig warmer 3proz. Salzsäure dar; man hat eben Zeit, die Lösung zu filtrieren, dann scheidet sich rasch die ganze Menge des Salzes in Nadeln aus, die in der Durchsicht unter dem Mikroskop olivgrün erscheinen, aber ein schön rotes lichtempfindliches Pulver geben. Für die Analyse diente das Salz exsiccatortrocken, im Vakuum und in der Wärme ließ es sich nicht trocknen, da es Chlorwasserstoff verliert.

Chlorhydrat aus krystallisiertem Präparat der beschriebenen Darstellung

0,1826 g gaben 0,4060 g CO_2 und 0,1002 g H_2O.

Gefunden	C	60,64
	H	6,14

Beschreibung.

In krystallisiertem Zustand ist Hämatoporphyrin haltbar; ein aufbewahrtes Präparat war nach einem $^3/_4$ Jahr unversehrt, was am besten mit der Salzsäurezahl beobachtet wird.

Das krystallisierte Hämatoporphyrin ist in Äther schwer löslich, ebenso in Alkohol und Methylalkohol, etwas mehr in absolutem Alkohol; Chloroform färbt es gar nicht an. In der Wärme löst es sich in Alkohol auch nur träge; während das amorphe Präparat in absolutem Alkohol leicht löslich ist. Aceton löst beträchtlich, Eisessig leicht mit prächtig violetter Farbe; bei kurzem Kochen oder Erwärmen erfolgt Acetylierung, dabei wird der blaue Ton der Flüssigkeit abgeschwächt, zugleich ändert sich die Salzsäurezahl des Porphyrins von 0,1 in 1. In verdünnter Schwefelsäure löst sich die Substanz rasch mit violetter Farbe, hingegen in konzentrierter mit stark grünstichigem Rot. Beim Verdünnen fällt das Porphyrin verdorben in ätherunlöslichen Flocken aus. In konzentrierter Salzsäure tritt eine solche Veränderung nicht ein; schon in 3proz. Salzsäure löst sich Hämatoporphyrin leicht, in 0,5proz. langsam.

Flüssiger Chlorwasserstoff wirkt bei gewöhnlicher Temperatur auf die alkoholischen Hydroxyle des Hämatoporphyrins ein, während im offenen Rohr, also bei sehr tiefer Temperatur, nur das Chlorhydrat

entsteht. Ich ließ das Porphyrin mit wasserfreier Salzsäure im Einschlußrohr zwei Tage stehen. Nach dem Verjagen des Chlorwasserstoffs war der metallisch glänzende, violette Rückstand in Aceton leicht löslich, während das Chlorhydrat des Hämatoporphyrins schwer löslich ist. Ich nahm das Reaktionsprodukt mit Aceton auf, fällte es fein verteilt mit Äther und schüttelte die ätherische Suspension mit viel wasserfreiem Natriumcarbonat unter Zusatz eines Tropfens Wasser kräftig durch. Die aus ihrem Salz entbundene chlorierte Säure ging mit brauner Farbe in Äther und wurde daraus mit Petroläther in dunkelbraunen Flocken gefällt. Salzsäurezahl ungefähr 3.

I. Präparat aus Hämatoporphyrin
0,1282 g gaben 0,0591 g AgCl (nach Carius),

II. Präparat aus Monoacetylhämatoporphyrin
0,1132 g gaben 0,0518 g AgCl (nach Carius).

Berechnet für $C_{33}H_{36}O_4N_4Cl_2$		Gefunden	I	II
Cl	11,38		11,40	11,32

Bei einem Versuch ließ ich auf das Chlorhydrat des chlorierten Porphyrins Methylalkohol einwirken. Nach eintägigem Stehen bei Zimmertemperatur war die Esterifizierung vollständig. Der Ätherester wurde aus ätherischer Lösung in prachtvollen Krystallen erhalten, die nach der Analyse und der Salzsäurezahl 3 mit der Tetramethylverbindung des Hämatoporphyrins identisch waren (siehe Analyse VI dieser Verbindung).

Absorptionsspektrum.

Mit Präparaten von zweifelhafter Reinheit ist das Spektrum des Hämatoporphyrins häufig untersucht worden[1]), zumeist in saurer oder in alkalischer Lösung. Unter solchen Bedingungen ist das Spektrum aber wesentlich abhängig von den Erscheinungen der Dissoziation in den salzsauren Lösungen. In den Untersuchungen von Willstätter und Pfannenstiel[2]) und Fritzsche[3]) ist dies durch den Vergleich der Chlorhydrate von Hämatoporphyrin und anderen Porphyrinen in Alkohol mit und ohne Überschuß von Chlorwasserstoff gezeigt worden.

---

[1]) Die Angaben der Literatur sind sorgfältig in H. Kaysers Handbuch der Spektroskopie Bd. IV, 129 [1908] und ferner in den „Beiträgen zur Photographie der Blutspektra" von E. Rost, F. Franz und R. Heise (Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt **32**, 223, 290 [1909]) zusammengestellt worden; zur Ergänzung ist auf die Messung von Willstätter und Pfannenstiel hinzuweisen.

[2]) Annalen d. Chemie **358**, 262 [1907].

[3]) Annalen d. Chemie **371**, 116 [1909].

Das Spektrum des freien Hämatoporphyrins in Äther haben E. Schunk und L. Marchlewski[1]), ohne Messungen mitzuteilen, mit dem von Phylloporphyrin verglichen.

Das krystallisiert erhaltene freie Hämatoporphyrin hat mir in ätherischer Lösung für die folgenden Messungen des Absorptionsspektrums gedient, die ich mit dem Löweschen Gitterspektroskop mit Wellenlängeschraube (der Firma Carl Zeiß) ausgeführt habe.

Wenn man von einem schwachen dünnen Streifen (II) im Orange absieht, besteht das Spektrum einer mittleren Schicht in der sichtbaren Region aus vier Absorptionsbändern, einem sehr schmalen, scharfen und dunklen (I) im Orange gegen Rot hin, einem schmalen, etwas weniger dunklen Streifen (III) beim Beginn von Grün, dem ein sehr breiter, die gelbe Region ausfüllender Schatten vorgelagert ist, und zwei starken Bändern im Grün und beim Übergang von Grün in Blau. Das letztere (V) ist das dunkelste und weitaus breiteste.

0,0586 g Substanz in 1 l Äther ($^1/_{1000}$ Mol in 10 l).

Schicht in mm	10	20	40	60
Band I	626 – 652	626 – 622	632/628 – 622/615	633 · · 630 – 620 · · 611
Band II	599/595	599 · 595	599 · · 595	600 · · · 595
Band III	584 · 572/570 · · · 567	584 · · 573/570 – – 567	589 · 585 – – 575 · · 571 – 567	591 · 586 – 565 · 559
Band IV	533 – – 525	537 – 524	539 – 521	541 – 520
Band V	509 – 484	512 – 482	516 – 481	516 – 479
Band VI	—	—	472/469	472/468
Endabsorpt.	434 –	438 –	443 –	446 –

Intensitätsfolge der Bänder vor der Linie G: V, IV, III, I, II, VI.

Esterifizierung des Hämatoporphyrins.

Die Esterbildung des Hämatoporphyrins haben Nencki und Zaleski[2]) und vor kurzem W. Küster und P. Deihle[3]) beschrieben. Längeres Kochen mit chlorwasserstoffhaltigem Methylalkohol führte zur Tetramethylverbindung, die aber auf diesem Wege nicht rein zu erhalten war. Bei kurzem Kochen entsteht nach Küster der Dimethylester des Hämatoporphyrins, ein amorphes Pulver vom Schmelzpunkt 140—142°.

Ich habe beobachtet, daß Hämatoporphyrin je nach den Bedingungen der Esterbildung zwei verschiedene Dimethylester bildet. Die Methyle

[1]) Proc. Roy. Soc. **59**, 233 [1896] und Annalen d. Chemie **290**, 306 [1896].
[2]) Nenckis Werke II, 756.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **86**, 51 [1913].

sind nur in die Carboxyle eingetreten, die Reaktion beschränkt sich aber nicht auf diese Gruppen.

Durch dreitägiges Stehen bei gewöhnlicher Temperatur mit 8proz. methylalkoholischer Chlorwasserstoffsäure wurde Hämatoporphyrin vollständig esterifiziert. Das Produkt war leicht löslich in Äther und krystallisierte daraus nicht. Beim Abdampfen hinterblieb es in Form einer spröden, glänzenden, dunkelroten Kruste vom Schmelzpunkt 149°; wahrscheinlich ist es dieselbe Verbindung, die Küster durch kurzes Erwärmen mit 1proz. methylalkoholischer Salzsäure dargestellt hat.

0,2134 g gaben 0,1664 g AgJ (nach Zeisel).

Berechnet für $C_{35}H_{42}O_6N_4$		Gefunden
OCH_3	10,10	10,53

Dieser Ester ist durch die Salzsäurezahl $^1/_2$ gekennzeichnet. Bei kurzem Kochen mit Normalschwefelsäure oder durch Auflösen in methylalkoholische Kalilauge wird er verseift und bildet Hämatoporphyrin zurück (Analyse VI desselben). Da ich den nämlichen Ester aus Häminoporphyrin erhalten habe, so ließ sich auf diesem Wege Häminoporphyrin in Hämatoporphyrin überführen (siehe Analyse VIII des letzteren).

Beim Erhitzen des Hämatoporphyrins mit 6proz. methylalkoholischer Chlorwasserstoffsäure während einer Stunde entstand noch keine Tetramethylverbindung. Der so gebildete Ester, durch Abdampfen der ätherischen Lösung als ziegelrotes Pulver vom Schmelzpunkt 121° erhalten, ging aus Äther erst in 1proz. Salzsäure reichlich (zu $^2/_3$) über. Nach ihrer Zusammensetzung scheint die Dimethylverbindung ähnlich wie Häminoporphyrin durch Austritt von einem Molekül Wasser aus zwei Molekülen Hämatoporphyrin, und zwar aus ihren alkoholischen Hydroxylen entstanden zu sein.

0,0845 g gaben 0,2158 g CO_2 und 0,0555 g H_2O,

0,1714 g gaben 0,1267 g AgJ (nach Zeisel).

Berechnet für $C_{35}H_{41}O_{5^1/_2}N_4$		Gefunden	
C	69,42	69,65	—
H	6,83	7,35	—
OCH_3	10,25	—	9,76

Tetramethylverbindung des Hämatoporphyrins [Ätherester, $C_{31}H_{34}N_4(OCH_3)_2(COOCH_3)_2$].

Den Eintritt von vier Methylen in Hämatoporphyrin beim Erhitzen mit Methylalkohol und Chlorwasserstoff haben schon Nencki und Zaleski beobachtet. Die Bildung dieser Tetramethylverbindung hat

sodann in den Arbeiten von W. Küster zum Beweise der Addition von Bromwasserstoff bei der Eliminierung des Eisens aus dem Hämin gedient. Die Bromwasserstoff-Eisessiglösung ist abgedampft und der Rückstand bei 50° mit Methylalkohol behandelt worden. So erhielt Küster[1]) das Tetramethylderivat zunächst unrein und amorph, vor kurzem[2]) auch rein in schön krystallisiertem Zustand. Dadurch ist dieser Teil meiner Versuche überholt worden.

Als ich die bisher fehlenden halogenhaltigen Zwischenprodukte der Porphyrinbildung isolierte, habe ich aus diesen durch Stehenlassen mit Methylalkohol den Ester der Äthersäure dargestellt. Die Konstitution der Tetramethylverbindung ergibt sich daraus, daß ich diese Verbindung in glatter Weise aus dem Hämatoporphyrin durch Einwirkung von wasserfreier Salzsäure und darauffolgender Methanolyse erhielt. Auch gelingt es folgendermaßen vom Ätherester wieder zu Hämatoporphyrin zu gelangen: Ich löse das Methylderivat in Bromwasserstoff-Eisessig (1,41) und verdünne nach einer Stunde mit Wasser; nach abermaligem Stehen wird die hydrolisierte Substanz in viel Äther übergeführt und mit ihrer Salzsäurezahl $^1/_{10}$ als Hämatoporphyrin identifiziert.

Der Ätherester ist in den üblichen Solvenzien, namentlich in den Alkoholen, Äther, Chloroform, Benzol sehr leicht löslich mit braunroter Farbe und krystallisiert erst bei großer Konzentration, dann aber bis zum letzten Tropfen der Lösung, in charakteristischen großen Pyramiden, deren Pulver leuchtend rot ist. Die Salzsäurezahl der Verbindung ist 3, deren saure Lösung prächtig violett.

Bei ziemlich raschem Erhitzen im Schmelzpunktsrohr entweicht Methylalkohol, dann erfolgt nach einigem Sintern bei 163° Schmelzen unter starkem Aufschäumen; das ist indessen der Schmelzpunkt der Substanz nach vorangegangener Zersetzung. W. Küster gibt den Schmelzpunkt 128° an.

I. Darstellung aus dem Bromid $C_{33}H_{39}O_4N_4Br_5$
0,2450 g gaben 0,6226 g CO_2 und 0,1585 g H_2O,
0,1882 g gaben 0,4778 g CO_2 und 0,1226 g H_2O,
0,1931 g gaben 0,2548 g AgJ (nach Zeisel).

II. Aus demselben nach Einwirkung von flüssigem Chlorwasserstoff
0,2193 g gaben 0,5513 g CO_2 und 0,1369 g H_2O,
0,2543 g gaben 0,3475 g AgJ (nach Zeisel).

---

[1]) Chem. Ber. **45**, 1935 [1912].
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **86**, 51 [1913].

III. Darstellung aus $C_{33}H_{37}N_4O_4FeCl_6$ nach Einwirkung von flüssigem Bromwasserstoff
0,2879 g gaben 0,7340 g CO_2 und 0,1863 g H_2O.

IV. Darstellung aus der Bromwasserstoff-Eisessiglösung des Hämins nach Erhitzen auf 100°, Fällen mit Äther und Methanolyse
0,1968 g gaben 0,4984 g CO_2 und 0,1247 g H_2O,
0,1379 g gaben 0,1909 g AgJ (nach Zeisel).

V. Ebenso aus Chlorwasserstoff-Eisessiglösung
0,2723 g gaben 0,3564 g AgJ (nach Zeisel).

VI Darstellung aus Hämatoporphyrin durch Einwirkung von flüssigem Chlorwasserstoff und Methanolyse
0,1378 g gaben 0,3525 g CO_2 und 0,0892 g H_2O,
0,1640 g gaben 0,2238 g AgJ (nach Zeisel).

VII. Ebenso aus Monoacetylhämatoporphyrin
0,2790 g gaben 0,7018 g CO_2 und 0,1751 g H_2O,
0,2272 g gaben 0,3047 g AgJ (nach Zeisel).

Berechnet für	$(C_{38}H_{46}O_6N_4)$	$C_{37}H_{46}O_6N_4$
C	69,68	69,12
H	7,09	7,22
OCH_3	18,96	19,32

Gefunden	I			II		III	IV		V	VI		VII		
C	69,31	69,24	—	68,56	—	69,53	69,07	—	—	69,79	—	68,59	—	
H	7,24	7,29	—	6,99	—	7,24	7,09	—	—	7,23	—	7,02	—	
OCH_3	—	—	17,43	—	18,05	—	—	18,27	17,29	—	18,02	—		17,72

Das Tetramethylderivat eignet sich zur Bestimmung des Molekulargewichts dank seiner großen Löslichkeit.

Über die Molekulargröße des Hämatoporphyrins sind schon drei Untersuchungen veröffentlicht worden, abgesehen von Zaleskis[1]) Bestimmung für Mesoporphyrin, welche keinen Zweifel an der Formel mit 32 bis 34 Kohlenstoffatomen gelassen hat. Zuerst haben M. Nencki und A. Rotschy[2]) Hämatoporphyrin trotz seiner geringen Löslichkeit

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **37**, 73 [1902].
[2]) Monatshefte f. Chemie **10**, 568 [1889] und Nenckis Werke II, 127.

nach der kryoskopischen Methode in Phenol und Eisessig untersucht und Werte beobachtet, welche die Formel $C_{16}H_{18}O_3N_2$ zu bestätigen schienen.

Entgegengesetzt sind die Resultate, zu welchen vor einem Jahr O. Piloty und W. Schlenk[1]) bei Bestimmung nach der Siedemethode in Pyridinlösung gelangten; sie fanden für Hämatoporphyrin[2]) die Werte 1143, 1113 und 1194 und schließen daraus, „daß für das Hämatoporphyrin das Doppelte des bisher angenommenen Molekulargewichts als feststehend angenommen werden muß," also die Formel $C_{68}H_{76}O_{12}N_8$. Von O. Piloty und H. Fink[3]) ist diese Folgerung auf Hämin und sogar auf Hämoglobin ausgedehnt worden. Diese Forscher isolierten bei der Darstellung des Mesoporphyrins ein amorphes Nebenprodukt, das Phonoporphyrin, und erblickten darin eine Bestätigung der Molekulargewichtsbestimmung von Hämatoporphyrin. Piloty und Fink führen aus, daß das Mesoporphyrin nur aus einer Hälfte des Moleküls gebildet werde, und sie ziehen den Schluß:

„Demnach ist mit Bestimmtheit erwiesen, daß das Hämin durch die gelinde Behandlung mit Jodwasserstoff in zwei Komponenten zerfällt, welche beide mindestens je 34 Kohlenstoffatome enthalten."

Eine dritte Angabe haben vor kurzem H. Fischer und A. Hahn[4]) über die Bestimmung des Molekulargewichts von Hämatoporphyrin veröffentlicht. Diese wiederholen mit einem bei gewöhnlicher Temperatur getrockneten Präparat die Bestimmung nach der Siedemethode in Pyridin und finden nur so geringe Siedepunktserhöhungen (entsprechend den Molekulargewichten 4295 und 3397), daß eine kolloidale Lösung anzunehmen war. Hingegen gab Hämin in Pyridin nach der ebulioskopischen Methode gute Werte, die der einfachen Formel (mit C_{34}) entsprechen.

Bei diesem Stande der Anschauung genügt es nicht, das Molekulargewicht des Hämins zu bestimmen. Es ist notwendig, die Frage für das Hämatoporphyrin zu lösen. Denn nach Piloty und Dormann soll das Porphyrin, wenn Hämin auch der einfachen Formel entspricht, daraus durch Kondensation zweier Moleküle entstehen.

---

[1]) Mitgeteilt von O. Piloty und E. Dormann, Annalen d. Chemie **388**, 319 u. 327 [1912].

[2]) Über Darstellung und Trocknung des angewandten Präparates sind keine Angaben gemacht worden; entweder war das Präparat nicht gut, nämlich vielleicht beim Trocknen polymerisiert, oder Hämatoporphyrin verträgt das Sieden in Pyridin ebensowenig wie das Trocknen bei 100°.

[3]) Chem. Ber. **45**, 2495 [1912] und **46**, 2020 [1913].

[4]) Chem. Ber. **46**, 2308 [1913].

Mit der krystallisierten Tetramethylverbindung des Hämatoporphyrins habe ich wegen der leicht eintretenden Abspaltung von Methylalkohol nicht die ebulioskopische Methode angewandt, sondern wie bei vielen Chlorophyllderivaten die kryoskopische mit Veratrol als Lösungsmittel. Aus den Beobachtungen ergibt sich für das Methylderivat und für Hämatoporphyrin selbst die einfache Molekulargröße, entsprechend der Formel mit 33 Kohlenstoffatomen.

Die angewandte Substanz war bei gewöhnlicher Temperatur im Vakuum getrocknet.

Bestimmung in Veratrol, Konstante 63,8.

		Gefrierpunktserniedrigung
I.	0,2513 g gaben in 10,55 g Veratrol	0,246
II.	0,1984 g gaben in 10,33 g Veratrol	0,207
III.	0,4206 g gaben in 10,33 g Veratrol	0,433
IV.	0,6630 g gaben in 10,33 g Veratrol	0,694
V.	0,1768 g gaben in 9,60 g Veratrol	0,188
VI.	0,3737 g gaben in 9,60 g Veratrol	0,398

Berechnet für $C_{37}H_{46}O_6N_4$	Gefunden	I	II	III	IV	V	VI
Molekulargewicht 642		618	592	600	590	625	624

Dimethyläther des Hämatoporphyrins, $C_{31}H_{34}N_4(OCH_3)_2(COOH)_2$.

Die Dimethoxysäure gewann ich genau übereinstimmend in ihrer Salzsäurezahl und Krystallisationsweise:

1. durch Einwirkung von methylalkoholischer Kalilauge auf das Hydrobromid $C_{33}H_{37}O_4N_4Br_5$ (Analyse I);
2. bei gleicher Behandlung des Hydrochlorids $C_{33}H_{37}O_4N_4FeCl_6$ (Analyse V);
3. aus der Tetramethylverbindung des Hämatoporphyrins durch Auflösen in wasserhaltiger, methylalkoholischer Kalilauge (Analyse II);
4. aus der Tetramethylverbindung $C_{37}H_{50}O_8N_4$ bei gleicher Behandlung (Analyse III und IV).

I. 0,2415 g gaben 0,6049 g CO_2 und 0,1532 g H_2O.
II. 0,1555 g gaben 0,1145 g AgJ (nach Zeisel).
III. 0,1566 g gaben 0,0960 g AgJ (nach Zeisel).
IV. 0,1505 g gaben 0,3767 g CO_2 und 0,0907 g H_2O.
V. 0,1640 g gaben 0,0999 g AgJ (nach Zeisel).

Berechnet für $C_{35}H_{42}O_6N_4$		Gefunden	I	II	III	IV	V
C	68,36		68,31	—	—	68,26	—
H	6,89		7,09	—	—	6,74	—
OCH_3	10,10		—	9,72	8,10	—	8,04

Von der Theorie für die Formel $C_{34}H_{42}O_6N_4$, nämlich C : 69,12, H : 6,77, entfernen sich die gefundenen Werte erheblich.

Die Säure zeichnet sich durch ihre Krystallisationskraft aus, ich sah sie nie anders als schon aus ziemlich verdünnter ätherischer Lösung in schönen, glänzenden, in der Durchsicht braunroten, prismatischen Täfelchen krystallisiert, die schief abgeschnitten waren und öfters Schwalbenschwanzzwillinge bildeten. Die Substanz sintert ein wenig beim Erhitzen und schmilzt nicht bis über 270°. Es ist daher schwer, die Verbindung für identisch zu halten mit der ganz kürzlich von Küster und Deihle als Dimethyläther des Hämatoporphyrins beschriebenen Substanz (gef. C 69,6, H 6,4), die nur amorph beobachtet wurde und bei 105° schmolz.

Dem Dimethyläther kommt die Salzsäurezahl 1 zu; aus seiner ätherischen Lösung geht er spurenweise in Salzsäure von 0,25%, fast vollständig auf einmal in 2%. Die saure Lösung ist schön violett und fluoresciert rot; unter den Bedingungen, wie Hämatoporphyrin als Chlorhydrat ausfällt, z. B. durch Auflösen in 3proz. Salzsäure, bleibt die Methylverbindung gelöst. Gegen konzentrierte Schwefelsäure, worin sie sich grünlichrot löst, verhält sich die Substanz wie Hämatoporphyrin. In Eisessig ist sie schon kalt mit wenig blaustichig roter Farbe leicht löslich, viel leichter als Hämatoporphyrin, auch in Aceton sehr leicht und in Alkohol leicht mit braunroter Farbe und braunroter Fluorescenz. Durch Einwirkung von Bromwasserstoff-Eisessig läßt sich aus der Methylverbindung Hämatoporphyrin zurückbilden.

Monoacetylverbindung des Hämatoporphyrins, $C_{31}H_{34}N_4 \cdot OH \cdot OCOCH_3(CO_2H)_2$.

Aus verschiedenen Halogenwasserstoffadditionsprodukten, den Zwischenstufen der Porphyrinbildung, geht bei der Einwirkung von Natriumacetat in Eisessig eine Monoacetylverbindung hervor. Man sollte dabei eine Diacetylverbindung erwarten, sie ist auch wahrscheinlich zunächst gebildet, aber sehr leicht, nämlich schon von wässeriger Essigsäure gespalten worden. Nach der Salzsäurezahl und dem Verhalten zu urteilen, entsteht aus Hämatoporphyrin dasselbe Acetylderivat. Seine Einheitlichkeit ist aber zweifelhaft, da es nicht in krystallisiertem Zustand erhalten worden ist.

Das aus der Bromwasserstoff-Eisessiglösung des Hämins gefällte Tetrabromid (4 g) löste ich in 500 ccm heißem Eisessig und fügte bis zum vollständigen Verschwinden der grünlichen Nuance krystallisiertes Natriumacetat hinzu, etwa 5 g. Die noch warme Lösung wurde mit Wasser gefällt und der flockige Niederschlag bei gewöhnlicher Temperatur getrocknet (2,1 g).

Um Hämatoporphyrin zu acetylieren, braucht man nur mit Eisessig aufzukochen und mit Wasser zu fällen; man darf nicht länger erhitzen, sonst verdirbt die Substanz und gibt ein in Äther unlösliches Produkt.

Das blauviolette Pulver ist in Alkohol und Aceton mit braunroter, in Eisessig mit schön violetter Farbe leicht löslich, in Äther schwerer, doch beträchtlich löslich. Die Salzsäurezahl ist $1^1/_2$, die saure Lösung hat weniger blauen Ton als die des Hämatoporphyrins. Bei längerem Aufbewahren verdirbt die Substanz.

I. Präparat aus $C_{33}H_{38}O_4N_4Br_4$

0,1972 g gaben 0,4803 g CO_2 und 0,1137 g H_2O.

II.[1]) Präparat aus $C_{33}H_{37}O_4N_4FeCl_6$

0,2538 g gaben 0,6229 g CO_2 und 0,1468 g H_2O.

Berechnet für $C_{33}H_{37}O_5N_4 \cdot OCOCH_3$		Gefunden	I	II
C	66,84		66,43	66,93
H	6,42		6,45	6,47

Beim Erwärmen an der Quecksilberpumpe im Acetonbad verliert die Acetylverbindung langsam, im Toluolbad rasch an Gewicht, nämlich 12—14%; für ein Mol Essigsäure und ein Mol Wasser ist 12,4% berechnet. Die flüchtigen Anteile kondensierte ich in einer mit flüssiger Luft gekühlten Vorlage.

2,3976 g verloren 0,2563 g, davon kondensiert 0,2309 g. Diese erforderten zur Neutralisation 32,3 ccm $n/_{10}$-NaOH entsprechend 0,2083 g Essigsäure. Für ein Mol Essigsäure sind berechnet 0,2240 g.

Die Zusammensetzung der erhitzten Präparate stimmt annähernd für die Formel mit vier Sauerstoffatomen, ähnlich wie lang erhitztes Hämatoporphyrin.

0,1791 g gaben 0,4675 g CO_2 und 0,1024 g H_2O,

0,1666 g gaben 0,4380 g CO_2 und 0,0965 g H_2O.

Berechnet für $C_{33}H_{34}O_4N_4$		Gefunden	
C	71,96	71,19	71,70
H	6,23	6,40	6,48

[1]) Die beiden Präparate sind einander sehr ähnlich, aber ihre Identität ist nicht ganz sicher.

Die Acetylverbindung liefert mit flüssigem Chlorwasserstoff im geschlossenen Rohr das Dichlorid des Hämatoporphyrins, und sie wird von Bromwasserstoff-Eisessig, auch schon von 4proz. Salzsäure bei zweistündigem Stehen in der Kälte, ferner von Natronlauge verseift, dabei entsteht wieder Hämatoporphyrin von der Salzsäurezahl 0,1.

Häminoporphyrin.

Bei der Einwirkung von flüssigem Chlorwasserstoff auf Hämin unter Hydrolyse des Zwischenproduktes $C_{33}H_{37}N_4O_4FeCl_6$ durch Säure entsteht nicht das bekannte Hämatoporphyrin, sondern eine neue Verbindung, die als Häminoporphyrin bezeichnet werden soll. Sie ist ihm sehr ähnlich; nämlich in der Krystallform, der Löslichkeit und in den basischen Eigenschaften (Salzsäurezahl) mit Hämatoporphyrin übereinstimmend. Die Zusammensetzung ist aber etwas verschieden; Häminoporphyrin ist durch Austritt von einem Mol H_2O aus zwei Molen Hämatoporphyrin gebildet, gemäß der Formel $(C_{33}H_{37}N_4O_{5^1/_2})_2$. Vielleicht ist unter dem Einfluß des Eisenhalogenids die Porphyrinbildung aus dem Hydrochlorid etwas anders verlaufen als beim Hydrobromid. Im Verhalten gegen Ammoniak gleicht Hämino- dem Hämatoporphyrin; an dem Verlust von Wasser sind also nicht die Carboxyle beteiligt, sondern eine alkoholische Hydroxylgruppe. Es wäre erwünscht, die angenommene Formel durch eine Molekulargewichtsbestimmung zu prüfen, aber es ist mir noch keine dafür geeignete Form des Häminoporphyrins bekannt. Bei der Esterbildung ist nämlich eine Methylverbindung des Hämatoporphyrins aus ihm entstanden.

Es gibt folgende charakteristische Unterschiede zwischen Hämino- und Hämatoporphyrin:

Beim Erhitzen im Hochvakuum auf 105° spaltet Hämatoporphyrin Wasser ab und geht in sauerstoffärmere Produkte über. Dabei wird es unlöslich und schwachbasisch. Unter denselben Bedingungen verliert Häminoporphyrin kein Wasser und bleibt nach Zusammensetzung, Löslichkeit und Salzsäurezahl unverändert.

Während Hämatoporphyrin ein Dichlorhydrat bildet, entsteht unter gleichen Umständen ein Trichlorhydrat des Häminoporphyrins.

Das Häminoporphyrin kann durch Hydrolyse mit energischen Mitteln in Hämatoporphyrin übergeführt werden.

Das Chlorwasserstoffadditionsprodukt des Hämins (3 g) löste ich unter gelindem Erwärmen in 20proz. Salzsäure und filtrierte von etwas flockiger Ausscheidung ab. Die Hydrolyse erfolgt sofort. Unter genauem Neutralisieren extrahierte ich das gebildete Porphyrin mit

viel Äther, woraus es schon aus verdünnter Lösung als schweres, dunkelviolettes Krystallmehl (1 g) ausfiel, aus metallglänzenden, rechteckigen, an den Ecken gerundeten Blättchen bestehend.

Hinsichtlich der Löslichkeit gilt für das neue Porphyrin die Beschreibung des Hämatoporphyrins, die Salzsäurezahl ist $^1/_{10}$ bis $^1/_5$, die Verbindung scheint ein wenig schwächer basisch zu sein als Hämatoporphyrin.

Die Analyse I ist mit einem exsiccatortrockenen Präparat, II mit demselben nach vierstündigem Erhitzen im Hochvakuum auf 105° (Gewichtsverlust 1,8%) ausgeführt; in drei weiteren Stunden trat keine Gewichtsabnahme mehr ein. Die erhitzte Substanz wies keinen Unterschied auf gegenüber der frisch dargestellten.

I. 0,1927 g gaben 0,4874 g CO_2 und 0,1149 g H_2O.
II. 0,2140 g gaben 0,5389 g CO_2 und 0,1250 g H_2O.

Berechnet für $C_{33}H_{37}O_{5^1/_2}N_4$		Gefunden	I	II
C	68,59		68,98	68,68
H	6,46		6,67	6,54

Trichlorhydrat.

3 proz. Salzsäure löst Häminoporphyrin klar auf und scheidet das schwerlösliche, aber nicht unlösliche Salz als hellroten Brei von Krystallnadeln aus.

0,2204 g (exsiccatortrocken) gaben 0,4628 g CO_2 und 0,1176 g H_2O.

Berechnet für $C_{33}H_{40}N_4O_{5^1/_2}Cl_3$		Gefunden
C	57,66	57,27
H	5,87	5,97

Umwandlung in Hämatoporphyrin.

Ich löste das Häminoporphyrin (0,3 g) in viel bei 0° gesättigter Bromwasserstoffsäure auf und trug die Flüssigkeit in Wasser ein. Nach 3 Stunden wurde das Porphyrin in Äther übergeführt und aus mäßig eingeengter Lösung krystallisiert erhalten (0,2 g). Es war Hämatoporphyrin (Analyse VII desselben).

Eine zweite Überführung wird vom Methylester vermittelt, den ich bei eintägigem Stehen des Häminoporphyrins mit 8 proz. methylalkoholischer Chlorwasserstoffsäure erhielt. Er bildet ein in Äther leicht lösliches ziegelrotes Pulver (OCH_3 gefunden 10,5%) von der Salzsäurezahl $^1/_2$, ist also mit dem in der Kälte dargestellten Dimethylester des Hämatoporphyrins identisch. Ich verseifte ihn mit methyl-

alkoholischer Kalilauge und brachte das freie Porphyrin in Äther, woraus es schon bei großer Verdünnung krystallisierte. Die Analyse VIII des Hämatoporphyrins ist mit diesem Präparat ausgeführt.

Hämidoporphyrin.

Ein anderes Porphyrin, über das ich an dieser Stelle nur einige vorläufige Angaben machen kann, erhielt ich aus dem Hydrochlorid des Hämins beim Behandeln einer warmen Lösung in Aceton (anstatt in Eisessig wie bei der Bildung der Monoacetylverbindung des Hämatoporphyrins) mit Eisessig-Natriumacetat. Das Produkt dieser Reaktion hatte vor dem Trocknen die Zusammensetzung des Hämatoporphyrins. Es ist eine prächtig krystallisierende Verbindung, durch die Salzsäurezahl 1 gekennzeichnet und von Hämato- sowie von Häminoporphyrin scharf unterschieden. Ich schlage für die Substanz den Namen Hämidoporphyrin vor. Man sollte die Bildung einer Acetylverbindung erwarten, aber das Hämidoporphyrin enthielt keine Essigsäure. Im Hochvakuum bei 105° erhitzt und mit einer durch flüssige Luft gekühlten Vorlage verbunden, verhielten sich verschiedene Präparate zwar auffallend ungleich, aber alle spalteten nur Wasser ab, ein bis zwei Moleküle und von Essigsäure höchstens Spuren. Das Hämidoporphyrin verhielt sich also wie eine Oxysäure. Gegen Säure und Alkalilauge ist es beständig, so daß noch keine Umwandlung in Hämatoporphyrin beobachtet wurde.

Hydrochlorid löste ich in Aceton (2 g in 100 ccm) und ließ, während die Flüssigkeit am Rückflußkühler kochte, eine Lösung von krystallisiertem Natriumacetat in Eisessig zutropfen. Die blaurote Farbe schlug in Rot, dann in Braun um, und es trat gewöhnlich eine Trübung ein; an diesem Punkt unterbrach ich den Zusatz der Eisessiglösung und filtrierte von etwas Nebenprodukt ab. Das Filtrat verdünnte ich mit viel Äther, beseitigte alle Essigsäure mit festem Natriumbicarbonat und wenig Wasser und engte die mit viel Wasser gewaschene ätherische Lösung stark ein. Dann krystallisierte das Hämidoporphyrin in prachtvollen großen Prismen aus, die gerade abgeschnitten waren und braunvioletten Glanz zeigten (Ausbeute 1 g). Das Porphyrin ist in Salzsäure mit violetter, in Ammoniak mit schön roter Farbe löslich.

I. 0,1660 g gaben 0,4123 g CO_2 und 0,0960 g H_2O.
II. 0,2241 g gaben 0,5533 g CO_2 und 0,1345 g H_2O.

Berechnet für $C_{33}H_{38}O_6N_4$		Gefunden	I	II
C	67,54		67,74	67,33
H	6,53		6,47	6,67

Analyse der heiß getrockneten Substanz:

I. 0,2926 g gaben 0,7512 g CO_2 und 0,1709 g H_2O.
II. 0,1332 g gaben 0,3434 g CO_2 und 0,0809 g H_2O.
III. 0,2147 g gaben 0,5538 g CO_2 und 0,1302 g H_2O.

Berechnet für $C_{33}H_{36}O_5N_4$		Gefunden	I	II	III
C	69,68		70,02	70,31	70,35
H	6,39		6,53	6,79	6,79

V. Ätioporphyrin aus dem Blutfarbstoff.

Theoretische Einleitung.

Um neue, dem Hämin in ihrer Zusammensetzung näher als Hämatoporphyrin stehende Porphyrine zu erlangen, haben Willstätter und Forsén die Methode des Abbaus von Chlorophyll durch Erhitzen mit methylalkoholischer Kalilauge auf Hämin und Hämatoporphyrin übertragen. So erhielten sie aus Hämatoporphyrin ein einheitliches, gut krystallisierendes Porphyrin mit vier Sauerstoffatomen, das Hämoporphyrin, das sich in seinen basischen Eigenschaften zwischen Hämato- und Mesoporphyrin stellt und letzterem in der Zusammensetzung sehr nahe steht. Gemäß der Analogie mit dem Abbau von Phytorhodin g[1]) zu Phylloporphyrin wird auch hier die Bildung des Hämoporphyrins, für das die Analyse die Formel $C_{33}H_{36}O_4N_4$ ergibt, als eine Reduktion des Hämatoporphyrins aufgefaßt, nämlich als Abspaltung von zwei Hydroxylgruppen, mit anderen Worten als Austritt von Wasser und Reduktion mit einem Molekül Wasserstoff:

$$\underset{\text{Hämatoporphyrin}}{C_{33}H_{38}O_6N_4} + H_2 = \underset{\text{Hämoporphyrin}}{C_{33}H_{36}O_4N_4} + 2\,H_2O.$$

Dennoch ist Hämoporphyrin nicht etwa einfach eine Dihydroverbindung des enteisenten Hämins, vielmehr sind bei der Bildung des Hämatoporphyrins durch Addition von Bromwasserstoff oder von Wasser reaktionsfähige Stellen angegriffen und bei der Überführung in Hämoporphyrin keineswegs zurückgebildet worden. Hämin addiert leicht, Hämoporphyrin addiert nicht, ebensowenig wie Mesoporphyrin.

Durch das Ergebnis der Analyse wird das Hämoporphyrin den aus Chlorophyll erhaltenen zweicarboxyligen Porphyrinen:

Glauko-, Rhodo-, Cyano-, Erythro-, Rubiporphyrin

sehr nahe gerückt; es ist mit ihnen isomer. Es verhält sich bei weiterem

[1]) XXII. Abhandlung über Chlorophyll, Annalen d. Chemie **400**, 147 [1913].

Abbau zwar nicht ganz gleich diesen, es verliert nämlich nicht so leicht ein Carboxyl, wie alle die Isomeren, aber beim Erhitzen mit Natronkalk erhielt ich, wie im folgenden gezeigt wird, durch Abspaltung seiner beiden Carboxylgruppen das nämliche Ätioporphyrin

$$C_{31}H_{36}N_4.$$

Schon die Analyse des Hämoporphyrins schließt eine Formulierung mit 34 Kohlenstoffatomen aus, Willstätter und Forsén fanden die Werte:

C	71,48	71,42	71,63	71,68	71,76
H	6,44	6,36	6,53	6,46	6,44

Berechnet für	$C_{34}H_{36}O_4N_4$	$C_{33}H_{36}O_4N_4$
C	72,30	71,70
H	6,43	6,57

Die Bildung der Stammsubstanz $C_{31}H_{36}N_4$ daraus macht die Formel der Dicarbonsäure Hämoporphyrin $C_{31}H_{34}N_4(COOH)_2$ mit 33 Kohlenstoffatomen und damit die entsprechende des Hämins sicher.

Ätioporphyrin.

Das Hämoporphyrin verhält sich beim Erhitzen mit Natronkalk ähnlich dem isomeren Rhodoporphyrin, die Abspaltung von Kohlensäure nimmt aber einen noch weniger glatten Verlauf, so daß viel sauerstoffhaltiges Nebenprodukt auftritt. Es ist vorzuziehen, da die Phylline ihr Carboxyl leichter verlieren als die Porphyrine, die Magnesiumverbindung des Hämoporphyrins für die Decarboxylierung anzuwenden und das Ätioporphyrin auf dem Umwege über das Ätiophyllin zu bilden, zu dem ich durch den Abbau des Chlorophylls gelangt bin.

Für die Einführung des Magnesiums in die Porphyrine aus Chlorophyll und Hämin haben Willstätter und Forsén[1]) zwei allgemein anwendbare Methoden gefunden, die Einwirkung von Grignardschen Lösungen und die Behandlung mit Magnesiumoxyd und methylalkoholischer Kalilauge. Mit der ersteren Methode hat kürzlich J. Zaleski[2]) unabhängig von der Veröffentlichung von obigen Autoren die Magnesiumverbindung des Mesoporphyrins dargestellt; in meinem Falle ist die Magnesiamethode vorzuziehen, da sie mir in einem einzigen Prozesse aus dem Hämatoporphyrin das Magnesiumderivat des Hämoporphyrins in der für die Decarboxylierung geeigneten Form des Kalisalzes liefert.

[1]) Annalen d. Chemie **396**, 180 [1913].
[2]) Chem. Ber. **46**, 1687 [1913].

Das Phyllin des Hämoporphyrins entsteht nämlich unmittelbar aus Hämoporphyrin beim Erhitzen auf 190° im Autoklaven in Mengen von 6 g mit 90 ccm methylalkoholischer Kalilauge und 2 g Magnesiumoxyd unter Zusatz von Pyridin (160 ccm). Nach dem Erkalten wurde die alkalische Flüssigkeit zur Entfernung des Pyridins mit 500 ccm Äther versetzt und die ausgefällte alkalische Schicht wiederholt mit Äther gewaschen. Dann verdünnte ich sie mit 200 ccm Wasser und fällte dadurch das Kaliumsalz des Phyllins in hellroten Flocken vollständig aus. Beim Anschütteln mit Äther im Scheidetrichter sammelten sie sich an der Grenzschicht und ließen sich nach dem Ablassen der Lauge, die ein braunes Nebenprodukt entfernte, vom Äther abfiltrieren; die Ausbeute an der hochprozentigen Kaliumverbindung betrug 8 g. Beim Ansäuern einer Probe mit primärem Phosphat entstand das freie Phyllin; es ist in ätherischer Lösung fuchsienrot wie Ätiophyllin, fluoresciert stark und krystallisiert schön. Durch Säure wird es leicht in Hämoporphyrin mit der Salzsäurezahl $^3/_4$ übergeführt.

Von dem Kaliumsalz dieses Phyllins vermische ich je 1 g gründlich mit 5 g reinem (eisenfreiem) Natronkalk in der Reibschale und erhitze, wie für Rhodophyllinsalz beschrieben, im Reagierrohr in vielen sehr kleinen Portionen rasch und vorsichtig über einer kleinen Flamme, wobei durch Bewegen das Anhaften der Substanz an der Glaswand verhütet wurde. Bei dem Eintritt eines Farbwechsels von Hellgrau in Braun war das Erhitzen sofort zu unterbrechen. Aus der alkalischen Masse ging beim Anfeuchten und Ausschütteln mit warmem Äther das gebildete Phyllin in Lösung, unrein und daher braunrot. Die Auszüge vieler Portionen wurden zusammen mit konzentrierter, methylalkoholischer Kalilauge, dann mit 4proz. Salzsäure durchgeschüttelt, wodurch sich ohne Zersetzung des Phyllins braune Beimischungen entfernen ließen. Es war sehr wichtig, das Rohprodukt weiter mit Petroläther zu reinigen. Beim Versetzen der sehr konzentrierten ätherischen Lösung mit viel (z. B. 1 l) Petroläther fielen sofort und noch mehr beim Stehen Flocken von amorphem Nebenprodukt aus. Nach einer wiederholten derartigen Behandlung war die Lösung des Ätiophyllins prächtig violettrot und fluorescierte schön rot.

Nun spaltete ich aus dem Phyllin mit Säure das Magnesium ab; während die ätherische Lösung des Ätiophyllins gegen wässerige Salzsäure auffallend beständig ist, z. B. bei einigem Schütteln mit 10proz. Salzsäure unverändert bleibt, genügt schon eine sehr verdünnte Säure (von 0,1 bis 0,05%), um bei der Einwirkung auf die Petrolätherlösung die Magnesiumverbindung zu zersetzen, so daß die Farbe in den Bronzeton

des Ätioporphyrins umschlägt. Um das Porphyrin aufzunehmen, bedarf es freilich, entsprechend seiner Salzsäurezahl 3, einer stärkeren Säure.

Der große Unterschied im Verhalten der petrolätherischen und ätherischen Phyllinlösung beruht wahrscheinlich darauf, daß der Äther die komplexe Bindung des Magnesiums schützt, in dem er eine beständige Verbindung mit dem Phyllin bildet. Wie die anderen Phylline und ähnlich den Grignardschen Verbindungen enthält nämlich Ätiophyllin gebundenen Äther, der im Hochvakuum bei 100° abgegeben wird.

Ich zog aus dem Petroläther mit 6 proz. Salzsäure das Ätioporphyrin aus und führte es unter Neutralisieren wieder in Äther über. Während des Einengens begann sich bei einem Volumen von 0,5 l die Substanz abzuscheiden, indessen dampfte ich rasch auf 100 ccm ein und ließ dann die Flüssigkeit stehen; das Ätioporphyrin krystallisierte vollständig aus in schönen und einheitlichen, glänzenden, spitzen Prismen. Die Ausbeute betrug 0,6 g aus 25 g Hämatoporphyrin, bei einem anderen Versuche 0,3 g aus 9 g.

Die exsiccatortrockenen Präparate erlitten im Hochvakuum bei 105° einen Gewichtsverlust von 1—3%. Ihre basischen Eigenschaften änderten sich nicht beim Trocknen. Die Substanz war ohne Umkrystallisation aschefrei; obwohl sie ganz einheitlich und ebenso rein zu sein schien wie die Präparate aus Chlorophyllderivaten, ergaben diese etwas zu niedere Werte.

Präp. I. 0,1645 g gaben 0,4800 g CO_2 und 0,1067 g H_2O.

Präp. II. 0,1526 g gaben 0,4450 g CO_2 und 0,1009 g H_2O.

Berechnet für $C_{31}H_{36}N_4$		Gefunden	I	II
C	80,11		79,58	79,53
H	7,82		7,26	7,40

Zur weiteren Reinigung führte ich die Substanz in ihr styphninsaures Salz über, das gut krystallisiert, indessen von überschüssiger Styphninsäure nicht leicht zu trennen ist. Das Porphyrin ließ sich am besten durch Auflösen in alkoholhaltiger 20 proz. Salzsäure und Abstumpfen der Säure mit Ammoniak in Äther überführen. Beim Versetzen mit ätherischer Styphninsäure fielen wenige Flocken und dunkle Partikel aus, aber nach dem Einengen prächtige Krystalle des Styphnates, rubinrote, trigonale Pyramiden mit gerundeten Kanten. Das Salz zersetzte sich beim Erhitzen, sinterte und schmolz bei 170° wie das Styphnat des Präparates aus Phylloporphyrin. Die Verbindung ist mit Wasser und Äther zerlegt und das Porphyrin beim Einengen wieder in Krystallen erhalten worden, die im Hochvakuum nur 0,3% an Gewicht verloren.

0,1595 g gaben 0,4643 g CO_2 und 0,1076 g H_2O.

	Berechnet für $C_{31}H_{36}N_4$	Gefunden
C	80,11	79,39
H	7,82	7,55

Trotz der schwer erklärlichen Abweichungen der Analyse, die auf eine nicht ganz genügende Reinheit hindeuten, halte ich die Identität der Substanz mit dem Ätioporphyrin aus den Chlorophyllderivaten für sicher. Die Übereinstimmung in allen Eigenschaften und die quantitative Bestimmung der Verteilung zwischen Salzsäure und Äther, der Verteilungszahl, ist dafür beweisend. Ich fand für 3 proz. Salzsäure (an diese gibt die ätherische Lösung etwa zwei Drittel der Substanz ab) die Verteilungszahl 43 und habe für die Darstellung aus Chlorophyll 40 ermittelt.

Das Ätioporphyrin der neuen Herkunft ist in Alkohol, Äther und Petroläther schwer, in Eisessig leicht löslich mit prächtig blauroter Farbe, während es in Äther bronzerot ist. Beim Verdunsten einer petrolätherischen Lösung krystallisiert es in kleinen rotbraunen, schief begrenzten Prismen; das Pulver hat die Farbe von Alizarin auf Chrombeize. Es schmilzt allmählich bei 265° (unter Zersetzung), etwas tiefer als das Präparat aus Phylloporphyrin (280°).

Absorptionsspektrum.

Die ätherische Lösung stimmt, wie die folgenden Zahlen zeigen, in ihrem charakteristischen Spektrum mit meinen früheren Messungen überein. Es sind hauptsächlich vier starke Bänder zu beobachten; ein besonders dunkles und scharfes liegt in Blau (VIII), ein anderes breites in Grün, ein eigentümlich gegliedertes in der gelbgrünen Region und im Orange ein schmales Band, dem gegen Gelb hin ein Schatten folgt.

0,0464 g in 1 l Äther ($^1/_{1000}$ Mol in 10 l).

Schicht in mm	20	80
Band I	—	649 / 641
Band II	624 — 619 / 613 · 609	634 / 627 — 617 · · · 609
Band III		
Band IV	598 / 593	598 · · · 593
Band V	581 · · · 572 / 568 — — 565 / 556	588 · 581 — 562 · · 556
Band VI		
Band VII	536 / 531 — 522 · · 518	537 — 517
Band VIII	506 — 478	513 — 480 · 465
Endabsorption	433 —	— 443

Reihenfolge nach der Intensität: Endabsorption, VIII, VII, II, VI, V, III, IV, I.

In das Ätioporphyrin läßt sich Eisen einführen, wenn man es in Eisessig mit Eisenchlorid und etwas Natriumacetat erwärmt. Ohne den Zusatz von Natriumacetat erfolgt die Substitution nicht, so gibt die ätherische Lösung mit Eisenchlorid nur die hellrote flockige Fällung eines lockeren Additionsproduktes, das schon von Wasser zerlegt wird.

Die Ferriverbindung, braunrot in Ätherlösung, ist zum Unterschied von Ätioporphyrin noch gegen 20 proz. Salzsäure indifferent, stärkere Salzsäure nimmt ohne Abspaltung des Eisens die komplexe Verbindung auf. Mit Alkali reagiert ihre ätherische Lösung sofort wie Hämin- und Mesohäminester, sie wird braun und nimmt intensives gelbes Tingieren an. Dabei erfolgt die Umwandlung des Chlorides in die Base nach der Gleichung:

$$C_{31}H_{34}N_4FeCl + NaOH = C_{31}H_{34}N_4FeOH + NaCl.$$

Curriculum vitae.

Geboren am 8. April 1889 in Reinach (Aargau), besuchte ich nach Absolvierung der dortigen Gemeinde- und Bezirksschule die technische Abteilung der aargauischen Kantonsschule in Aarau vom Frühjahr 1905 bis Herbst 1908. Mit der erfolgreichen Ablegung der Maturitätsprüfung daselbst trat ich Herbst 1908 an die naturwissenschaftliche Abteilung der Eidg. technischen Hochschule in Zürich über, um Frühling 1912 auf Grund bestandener Vordiplom- und Diplomprüfungen und einer im Laboratorium von Herrn Prof. Willstätter ausgeführten Untersuchung über Chlorophyll das Diplom eines Fachlehrers in Naturwissenschaften zu erwerben. Die in der Diplomarbeit begonnenen Untersuchungen über den Blattfarbstoff führte ich im Sommersemester 1912 als Assistent meines hochverehrten Lehrers an der technischen Hochschule fort. Mit der von Herrn Prof. Willstätter angenommenen Berufung an das neugegründete Kaiser-Wilhelm-Institut für Chemie in Berlin-Dahlem bin ich Herbst 1912 als Assistent nach Berlin gefolgt, um an diesem Institut die Arbeiten über Blut- und Blattfarbstoff fortzusetzen.

Druck
der Spamerschen
Buchdruckerei in Leipzig